

Tesis de Posgrado

Cromosomas B : Meiosis y herencia en razas nativas de maíz

Chiavarino, Amílcar Mauricio

1997

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Chiavarino, Amílcar Mauricio. (1997). Cromosomas B : Meiosis y herencia en razas nativas de maíz. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2934_Chiavarino.pdf

Cita tipo Chicago:

Chiavarino, Amílcar Mauricio. "Cromosomas B : Meiosis y herencia en razas nativas de maíz". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1997.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2934_Chiavarino.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**CROMOSOMAS B: MEIOSIS Y HERENCIA
EN RAZAS NATIVAS DE MAÍZ**

Amílcar Mauricio Chiavarino

**Director: Dra. Lidia Poggio
Codirector: Dr. Carlos A. Naranjo**

Lugares de trabajo:

**Instituto Fitotécnico de Santa Catalina
Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales-UNLP,
Centro de Investigaciones Genéticas
UNLP-CONICET-CIC**

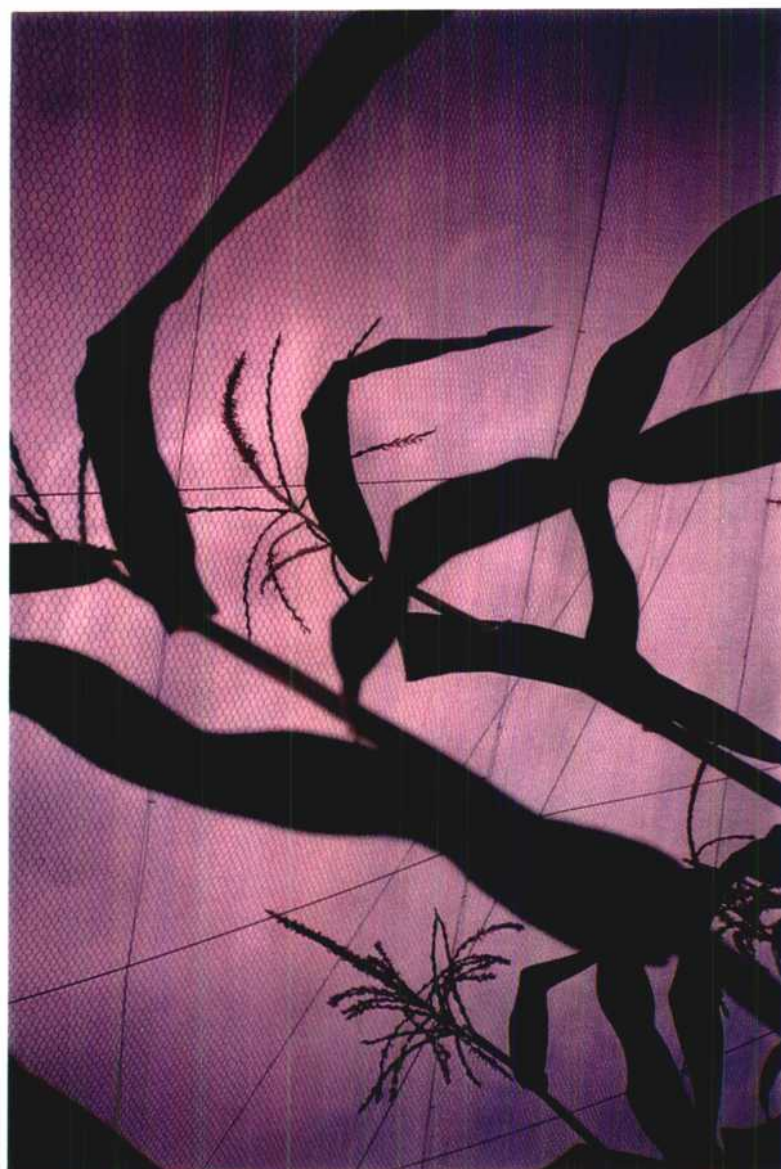
**Laboratorio de Genética,
Departamento de Ciencias Biológicas
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
UBA**

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

1997

Lj2

**B CHROMOSOMES:
MEIOSIS AND TRANSMISSION
RATE IN NATIVE RACES OF MAIZE**



**a mi mamá
y mi papá**



La familia Guanca reunida con sus vecinos en una fiesta familiar. Son cultivadores de maíz en el Dpto. de Humahuaca, Pcia. de Jujuy. Gracias a ellos, como a muchos otros cultivadores del NO. argentino, que tan gentilmente nos ofrecieron sus maíces, pudimos realizar 'los estudios'.

AGRADECIMIENTOS

Con expresarte mi más cálido agradecimiento en esta página, sabés bien Marcela que no alcanza. Después de tantos años de esperanzas, desalientos, victorias, tropiezos, y alegrías compartidos, me resulta ingenuo y mezquino sólo decirte gracias por.... Prefiero sólo decirte que me siento profundamente agradecido por haber tenido la suerte de estar todo este tiempo a tu lado, siendo tu compañero siempre.

Quiero expresar todo mi aprecio a mis Queridos Directores por haberme permitido desarrollarme en el área que más cautivó el interés de Marcela y mío desde Genética I. Sin ellos jamás habría podido imaginar realizar una Tesis sobre cromosomas B. Deseo recordar su manifiesta y desinteresada presencia en los momentos de éxito, y en los que el mundo se nos venía encima. Ya no podré pensar en la imagen de un Director, sin la referencia del ejemplo que mis Directores me dieron. Es por todo esto que ahora les retribuyo con mi más cálido

Gracias.

Deseo agradecer la participación, el entusiasmo y el impulso (*drive*) brindado por la Prof. Dra. María Jesús Puertas (Depto. de Genética, Fac. de Biología, Universidad Complutense).

Deseo agradecer toda la colaboración prestada por el Ing. Agr. J. Cámara Hemández en la determinación y asesoramiento de los materiales empleados en la presente Tesis (Laboratorio de Recursos Naturales Vavilov, Facultad de Agronomía, UBA).

Agradezco a Pablo Rosi toda su colaboración prestada, su contagioso entusiasmo y sobre todo su amistad.

Agradezco a todos mis compañeros del Departamento de Genética de la FCEyN y del Instituto Fitotécnico de Santa Catalina. En particular la buena

predisposición del Dr. Eduardo Greizerstein en ayudarme en todo momento, y el asesoramiento de la Dra. María Isabel Remis.

Agradezco a todo el personal no-docente del campo y del laboratorio del IFSC la colaboración prestada. En particular al Sr. Enrique Michel y durante este ultimo tiempo a Diego Fink.

Gracias a mi amigo Raúl.

Deseo agradecer el espacio que el Instituto Fitotécnico de Santa Catalina me ha brindado para aprender, desarrollar, y sobre todo disfrutar mi trabajo.

Agradezco a los subsidios otorgados a mis Directores por el CONICET y por la Universidad de Buenos Aires.

Por último quiero agradecer a todos los seres que componen la fauna herbívora del IFSC (hormigas negras, orugas, gorgojos, polillas, arañuelas, pulgones, chingolos y ratuchas), en especial al siempre amenazante caballo, por ser capaces de contener un poco su voracidad y darle una oportunidad a mi Tesis.

- _ ¿Cuánto?
- _ tengo... veinte, dos de veinte.
- _ y... yo tres de 22, dame una galletita.
- _ anotá 22
- _ ¿el mismo?
- _ no otro individuo.

Tres meses después...

- _ a ver..., 20, 20 y 20, listo, ¿y vos?
- _ tres de 21
- _ no puede ser!, es rarísimo!
- _ es lo que voy!

Medio año después...

- _ 22, 22 y 22, terminamos!
- _ dio de alta!, genial!
- _ ¿Y...te enteraste de algo?
- _ sí..., se quedaron 200 afuera...

Kurtz: Do you call this an unsound method?

Willard: I don't see the method..., Sir.

("Apocalipsis Now", F. Coppola)

... the children are insane;

Waiting for the summer rain...

... This is the end, beautiful friend

This is the end, my only friend

The end of our elaborate plans

The end of everything that stands - the end

No safety or surprise, the end.

("The End", Jim Morrison, The Doors)

ÍNDICE

RESUMEN	12
ABSTRACT	18
INTRODUCCIÓN	
CROMOSOMAS B	
Características generales	24
Herencia	26
Variación en la tasa de transmisión	30
Dinámica poblacional	32
CROMOSOMAS B DE MAÍZ	
Características generales	35
Comportamiento meiótico	36
Herencia	39
Genes	43
OBJETIVOS	
DESCRIPCIÓN GENERAL	47
TRANSMISIÓN MASCULINA DE LOS CROMOSOMAS B	47
COMPORTAMIENTO MEIOTICO DE LOS CROMOSOMAS B EN DIFERENTES RAZAS	49
MATERIALES Y MÉTODOS	
MATERIALES EMPLEADOS	51
TRANSMISIÓN DE LOS CROMOSOMAS B	
Métodos citogenéticos	52
Cruzamientos realizados para la obtención de G_0	52
Cruzamientos realizados para la obtención de G_1 y G_2	54
Cruzamientos realizados para la obtención de G_3	59
Comportamiento meiótico dentro de los grupos con diferente tasa de transmisión	61

COMPORTAMIENTO MEIÓTICO DE LOS CROMOSOMAS B

Cruzamientos realizados	62
Análisis del comportamiento meiótico	64

RESULTADOS

TRANSMISIÓN DE LOS CROMOSOMAS B

Tasa de transmisión	66
Determinación de la dosis	66
Tasa de transmisión en G_0	66
Tasa de transmisión en G_1	68
Tasa de transmisión en G_2	70
Tasa de transmisión en G_3	73
Comportamiento meiotico de los cromosomas B en individuos de alta y baja tasa de transmisión	78
Comportamiento meiótico de individuos con 1B	78
Comportamiento meiótico de individuos con 2B	80

COMPORTAMIENTO MEIOTICO DE LOS CROMOSOMAS B EN LAS RAZAS *PISINGALLO*, *AMARILLO CHICO*, Y SUS HÍBRIDOS

Análisis meiótico de individuos con 1B	83
Obtención de híbridos interraciales con 1B	83
Comportamiento meiótico	85
Análisis meiótico de individuos con 2B	88
Obtención de híbridos interraciales con 2B	89
Comportamiento meiótico	90
Análisis meiótico de individuos con 3B	93
Obtención de híbridos interraciales con 3B	93
Comportamiento meiótico	95
Análisis meiótico de individuos con 0B	102

Frecuencia de quiasmas	103
Frecuencia de quiasmas de los cromosomas B y A	103
Frecuencia de apareamiento de los cromosomas B, origen racial y dosis	105
Pérdida meiótica de los cromosomas B	107
Relación entre la pérdida meiótica y la raza de los portadores	107
Relación entre la pérdida meiótica de los cromosomas B y su dosis	109
LÁMINAS	110
DISCUSIÓN	
TASA DE TRANSMISIÓN DE LOS CROMOSOMAS B	
Estabilidad somática	120
Tasa de transmisión en G_0	120
Tasa de transmisión en G_1 y G_2	121
Meiosis	122
Tasa de transmisión en G_3	124
COMPORTAMIENTO MEIOTICO DE LOS CROMOSOMAS B	
Frecuencia de quiasmas	129
Relación con la frecuencia de quiasmas de los cromosomas A	129
Frecuencia de apareamiento, dosis y origen racial	129
Pérdida meiótica	130
Causas	130
Relación con la dosis	131
Relación con la raza de los individuos portadores	131
CONCLUSIONES	133
BIBLIOGRAFÍA	137

RESUMEN

TASA DE TRANSMISIÓN DE LOS CROMOSOMAS B

Las poblaciones de razas nativas de maíz presentan polimorfismos numéricos para cromosomas accesorios (B). Estos cromosomas B poseen una herencia o transmisión no mendeliana. Una de las características del modo de herencia no mendeliano es la variación en su tasa de transmisión ($Tt = \text{media de Bs transmitidos a la progenie} / \text{nro. de Bs de los progenitores}$), de manera tal que algunas progenies tienden a perder los cromosomas B y en otras los B tienden a aumentar, comparado con la tasa de transmisión mendeliana.

Se analizó la progenie (G_0) de 20 cruzamientos f.0Bx m.1B a partir de una población argentina de la raza *Pisingallo*, hallándose variación en la Tt masculina 0.17-0.98 ($Tt \text{ media}=0,52$). Luego se seleccionaron durante 3 generaciones sucesivas las progenies que presentaron las mayores y menores tasas de transmisión masculina. Como resultado se obtuvieron dos grupos significativamente diferentes, uno de alta Tt (0,65, 0,68 y 0,71) y otro de baja Tt (0,41, 0,48 y 0,48), lo cual demuestra que la tasa de transmisión masculina de los B está sujeta a control genético.

Con el fin de establecer el modo de acción de los genes que regulan la tasa de transmisión se estudió: a) el comportamiento meiótico de los B dentro de los grupos seleccionados para alta y baja tasa de transmisión. b) el resultado de los cruzamientos (G_3) entre ambos grupos, 0B(alta) x 2B(baja) y

0B(baja)x2B(alta), y entre sus respectivos controles 0B(baja) x 2B(baja) y 0B(alta)x2B(alta).

Los estudios del comportamiento meiótico de los cromosomas B realizados en individuos con 1B que difieren en su tasa de transmisión (en la población parental VAV 6313) indicaron que, en general, el univalente B migra precozmente a un polo, integrándose a uno de los núcleos resultantes. La pérdida meiótica de los univalentes B fue escasa (3 a 8%) en los dos grupos de baja y alta Tt masculina.

Los estudios del comportamiento meiótico en individuos con 2B seleccionados para alta y baja tasa de transmisión, en las generaciones G₀, G₁ y G₂, indicaron que en el 83,4 al 99% de las células los dos cromosomas B formaron un bivalente. No se hallaron diferencias entre las frecuencias de formación de bivalentes B en plantas de baja y alta Tt masculina. La frecuencia de micronúcleos en los estadios telofase I - díada y telofase II - tétrada fue escasa (0 a 9,6% y 0 a 4,6%, respectivamente). Por lo tanto, el modo de acción de los genes no implica la pérdida de los cromosomas B durante la meiosis del grupo de baja tasa de transmisión.

La tasa de transmisión media obtenida de la progenie de los cruzamientos 0B(alta) x 2B(baja) (0,69) resultó significativamente mayor que la Tt de los cruzamientos 0B(baja) x 2B(baja) (0,48), no difiriendo significativamente de la Tt de

0B(alta) x 2B(alta) (0,71). Por otro lado, la Tt obtenida de 0B(baja) x 2B(alta) (0,48) fue significativamente menor a la Tt de 0B(alta) x 2B(alta), no difiriendo significativamente de la Tt obtenida de 0B(baja) x 2B(baja). Estos resultados indican que los factores que controlan la transmisión masculina de los B están genéticamente controlados por el receptor femenino con 0B. Además, debido a que el progenitor femenino no posee Bs, puede concluirse que los genes que controlan la tasa de transmisión masculina se encuentran en los cromosomas A. Algunos genotipos de los progenitores femeninos (de alta Tt) aumentan la frecuencia con que la óosfera con 0B es fecundada por el núcleo portador de los B, mientras que esto no sucede con otros (de baja Tt), ocurriendo una fecundación al azar con una tasa de transmisión cercana a 0,5. Estos genotipos podrían estar jugando un papel importante en el mantenimiento de los polimorfismos para cromosomas B en la poblaciones.

COMPORTAMIENTO MEIOTICO DE LOS CROMOSOMAS B

El comportamiento meiótico de los cromosomas B se investigó en individuos de las razas *Amarillo chico* y *Pisingallo* y en sus híbridos

La frecuencia de quiasmas de los cromosomas B se encuentra positivamente correlacionada con la frecuencia de quiasmas de los A en la raza *Amarillo chico*. El análisis de la frecuencia de apareamiento de los B respecto de la dosis indicó que en esta raza la frecuencia de apareamiento de los cromosomas B en individuos con 3B es notablemente menor que en individuos con 2B. Por otro

lado, en la raza *Pisingallo* los 3B poseerían una frecuencia de apareamiento mayor, y no se modificaría por la frecuencia de quiasmas de los cromosomas A.

Los cromosomas B sólo pueden perderse en la meiosis cuando se encuentran como univalentes. Esta pérdida meiótica se debe a tres razones principales: 1) el univalente B se divide ecuacionalmente en anafase I; 2) el univalente B permanece rezagado en anafase I; 3) el univalente B migra a un polo, pero no se integra a ninguno de los núcleos formados en telofase I. Se analizó la pérdida meiótica de los cromosomas B en relación con su dosis. La frecuencia de micronúcleos en los individuos controles intrarraciales y en los híbridos interraciales sin cromosomas B (0B) resultó muy pequeña cuando se la comparó con individuos con cromosomas B. Por lo tanto, la presencia de micronúcleos sólo puede ser atribuida a los B.

Los resultados indicaron que los cromosomas B de los individuos de la raza *Amarillo chico* se pierden con mayor frecuencia cuando se encuentran en simple dosis (11,3 a 38,3%). En cambio cuando los B se encuentran en dosis mayores que 1B, pueden aparearse y segregarse correctamente durante anafase I, permitiendo de esta manera su integración en los núcleos resultantes de la telofase I. En los individuos con 2B, la frecuencia de micronúcleos en telofase I-díada es baja en todos los individuos híbridos y controles intrarraciales de *Amarillo chico* y *Pisingallo* (0 a 9,4%).

Los individuos con 3B de la raza *Amarillo chico* presentaron una mayor tendencia a la pérdida meiótica (6,6 a 27,6%). La mayor frecuencia de micronúcleos se debe a que la frecuencia de apareamiento de los B en individuos con 3B es significativamente menor que en individuos con 2B. Por lo tanto, la pérdida meiótica aumenta a medida que aumentan los univalentes B.

La pérdida meiótica de los cromosomas B es significativamente mayor en los individuos de la raza *Amarillo chico* que en los de la raza *Pisingallo*. En general, la frecuencia de micronúcleos en los híbridos interraciales fue intermedia respecto de la frecuencia en cada una de las dos razas. En híbridos que portan un cromosoma B de la raza *Pisingallo* transmitido por vía materna, la pérdida meiótica resultó tan elevada como en los individuos de la raza *Amarillo chico*. De esta manera, resulta poco probable que la elevada frecuencia de micronúcleos observada en telofase I-diada se encuentre asociada a los cromosomas B o a algún efecto del citoplasma de *Amarillo chico*. En esta raza, la elevada pérdida meiótica de los cromosomas B podría deberse: 1) a la presencia de genes en los cromosomas A, que provocarían una mayor pérdida meiótica de los univalentes B, y 2) a una menor frecuencia de apareamiento de los 3B.

Palabras clave: Maíz, razas nativas, cromosomas B, transmisión de los B, control genético de la tasa de transmisión, comportamiento meiótico de los B.

ABSTRACT

B TRANSMISSION RATE

Native populations of maize show numerical polymorphisms for accessory chromosomes (Bs). It is well known that B chromosomes have a non-Mendelian inheritance. One feature of such mode of inheritance is the variation in the B transmission rate (TR), in such a way that in some progenies the Bs tend to be lost and in others they tend to be increased in number compared to Mendelian expectation. This work was carried out in an Argentine population of the native race *Pisingallo*. A variation in B-transmission rate was found (0.17 to 0.98, mean TR=0.52). Afterwards, the progenies showing the highest and lowest male B-transmission rate were selected along three generations. The results indicate the presence in the 3 generations of two different groups of plants: high B-TR (0.65, 0.68 and 0.71) and low B-TR (0.41, 0.48 y 0.48), and demonstrate the existence of polymorphism for genes controlling the B-TR.

With the aim to understand the mode of action of these B-TR control genes I have studied: a) the B meiotic behaviour of high and low selected groups; b) the progeny (G_3) of crossing both groups, 0B(high)x2B(low) and 0B(low)x2B(high), and their controls 0B(low)x2B(low) and 0B(high)x2B(high).

The meiotic behaviour of individuals with 1B from the parental population, which had a different B-transmission rate was studied. Scarce meiotic loss of Bs was observed in the high and low male B-TR plants (3 to 8%). Studies of the meiotic behaviour of Bs were carried out in individuals with 2B belonging to

different B-TR groups (high and low). These studies showed that the 2B are homologous, can form a bivalent and have a regular meiotic behaviour. The low frequency of micronuclei found in telophase I-dyad and telophase II-tetrad (0 to 9,6% and 0 to 4,6%, respectively) indicated scarce meiotic loss of the two B in the high and low male B-TR plants. Therefore, the mode of action of these genes does not implicate a B-meiotic loss in the low B-TR group.

The mean B-transmission rate obtained from the progeny of 0B(high)x2B(low) (0.69) crosses was significantly higher than from 0B(low)x2B(low) (0.48) crosses, and there was no difference with the B-TR from 0B(high)x2B(high) (0.71). Besides, the B-TR obtained from 0B(low)x2B(high) (0.48) was significantly lower than the one from 0B(high)x2B(high), and there was no difference with the B-TR from 0B(low)x2B(low). The former mentioned indicated that the male transmission rate is genetically controlled by the 0B female parent, and that these genes are located in the A chromosomes. Some genotypes (high B-TR female parent) tend to increase the frequency of fertilisation by sperm with 2B, while others (low B-TR female parent) do not; in these cases the fertilisation would occur randomly resulting in a B-TR close to 0.5.

MEIOTIC BEHAVIOUR OF THE B CHROMOSOMES

The B-meiotic behaviour was studied in the races *Amarillo chico* and *Pisingallo*, and in their interracial hybrids.

It was found that there is a positive correlation between the chiasma frequency of B-chromosomes and of A chromosomes in *Amarillo chico* race. The analysis between B pairing and doses of Bs in this race indicated that, in 3B individuals the B pairing frequency is significantly lower than in 2B individuals. On the contrary, Bs from *Pisingallo* race would have a higher B pairing frequency and it would not be modified by the A chiasma frequency.

The B-chromosomes may be lost in meiosis when they occur as univalents. The meiotic loss can occur in three different ways: 1) the B univalent splits mitotically in anaphase I; 2) the B univalent lags in anaphase I; 3) The B univalent migrates to a pole but it fails to integrate in to one of the telophase I nuclei. The relationship between B-meiotic loss and B doses was analysed. The micronuclei frequency in 0B interracial hybrids and racial controls is very low when compared with the frequency of individuals with Bs. Therefore, the existence of micronuclei can only be due to the presence of B univalents.

The results indicate that the B-chromosome loss is higher in 1B individuals than in 2B or 3B individuals in *Amarillo chico* race (11,3 to 38,3%). When Bs are present in doses higher than one, they can pair and segregate in anaphase I, and integrate in to one nucleus during telophase I. In 2B individuals, the micronuclei frequency is low in telophase I-dyad in all hybrids and individuals from *Amarillo chico* and *Pisingallo* race (0 to 9,4%). The 3B individuals from *Amarillo chico* showed a higher B-meiotic loss than in the 2B ones (6,6 to 27,6%). This increase of

micronuclei is due to the fact that the pairing frequency of 3B of *Amarillo chico* race is lower than that of 2B. The B meiotic loss increases with the increase number of B chromosomes.

The B-meiotic loss was significantly higher in individuals of *Amarillo chico* race than in *Pisingallo* race. In general, the micronuclei frequency in hybrids was intermediate considering both races. In hybrids with 1B coming from *Pisingallo*, transmitted by the female side, the B-meiotic loss resulted as high as in the *Amarillo chico* individuals. Therefore, it is unlikely that the high micronuclei frequency in telophase I-dyad is associated either with B chromosome or any *Amarillo chico* cytoplasmic effect. The high B-meiotic loss found in *Amarillo chico* race could be due to the presence of genes in A-chromosomes of its individuals. These genes would not obtain in individuals of *Pisingallo*. The presence of these genes and a low 3B pairing frequency could explain the high B-meiotic loss found in *Amarillo chico* race.

Key words: Maize, native races, chromosomes, B transmission, genetic control of B transmission rate, B meiotic behaviour.

INTRODUCCIÓN

CROMOSOMAS B

Características generales

Los cromosomas extra o supernumerarios fueron detectados por vez primera en el insecto *Metapodius* y los coleópteros *Diabrotica soror* y *Diabrotica punctata* por Stevens (1908) y por Wilson (1906) (citado por Jones 1995), pocos años después del redescubrimiento de las leyes de Mendel y la consolidación de la hipótesis de Sutton y Boveri (teoría cromosómica de la herencia). Este nuevo tipo cromosómico presentaría como característica principal que su transmisión no comporta de acuerdo con las leyes de Mendel. Algunos años después se los descubrió en maíz. Según Randolph (1941), Kuwada en 1911 y 1915, en sus pioneros estudios cromosómicos en *Zea mays*, concluyó que 24 era el número somático de cromosomas puesto que éste resultó el número común a todos los individuos de maíz dulce que él examinó. Más tarde, su interpretación cambió al reconocer que $2n=20$ era el número predominante en el maíz, y que la descendencia de plantas con más de 20 cromosomas recibe un número variable de cromosomas (Randolph, 1941). Este mismo autor comenta que Longley (1927) realizó diversas determinaciones del número cromosómico en progenies de plantas de maíz con números variables de cromosomas B. Sus resultados indicaron que ellos se transmiten libremente a través de los gametos femeninos y masculinos, y que los números transmitidos resultaron más elevados que los que podría esperarse de la combinación gamética de los números parentales (Randolph, 1941).

El término cromosoma B para referirse a los mencionados cromosomas extra o supernumerarios, fue introducido por primera vez por Randolph en 1928 para distinguir esta forma de cromosoma supernumerario de los miembros del complemento normal (cromosomas A). Desde entonces, se los ha descripto y estudiado en muchísimas especies vegetales y animales. Actualmente se ha determinado que están presentes en más de 1300 especies de plantas y cerca de 500 especies de animales (Jones and Puertas, 1993).

Los cromosomas B no son indispensables para la supervivencia de los organismos portadores. Los efectos que los B producen sobre el exofenotipo en muchas especies son, en general, débiles, y no suelen ser cualitativos sino cuantitativos. Cuando los B están presentes en dosis bajas los efectos pueden ser neutros, mientras que en dosis altas los cromosomas B tienen siempre efectos desfavorables. Por ejemplo, se ha observado en centeno que en dosis bajas hay una aceleración en la germinación del polen y en la tasa de crecimiento del tubo polínico (Puertas and Carmona, 1976). Por otro lado, los individuos portadores de elevadas dosis de cromosomas B disminuyen su vigor y fertilidad (Müntzing, 1963; Romera **et al.**, 1989).

Además de los efectos sobre el exofenotipo, en muchas especies animales y vegetales los cromosomas B influyen en forma considerable sobre el endofenotipo, alterando la duración del ciclo celular, la frecuencia y distribución de quiasmas (Remis and Vilardi, 1986), incrementando la cantidad de RNA nuclear y

proteínas nucleares (Kirk and Jones, 1970). En ocasiones, estos efectos suelen ser no proporcionales a la dosis de Bs, pues en dosis pares difieren menos respecto de individuos sin B, que los que poseen dosis impares. Se propuso que este efecto impar o en zig-zag se debe a una asociación somática de los B, estando la actividad genética controlada por este apareamiento, mientras que en dosis impares siempre un B somático estaría desapareado y genéticamente activo (Jones and Rees, 1982; Carlson, 1978). Los cromosomas B, en general, parecen ser portadores de pocos genes funcionales y no resultan vitales para el organismo. Se ha demostrado, sin embargo, la presencia de genes reguladores, como en el caso de *Scilla* (Liliaceae), donde los patrones isoenzimáticos de la actividad esterásica se ven alterados (Rejón, *et al.*, 1980, 1987; Oliver *et al.*, 1982).

Herencia

La herencia de los cromosomas B es usualmente no-mendeliana. En general, ellos se mantienen en las poblaciones por mecanismos de acumulación que varían entre las especies; de esta manera tienden a incrementarse naturalmente en la descendencia, provocando un impulso. El impulso es una desviación de la tasa de transmisión esperada de los B de acuerdo con las leyes de Mendel. Según sea el mecanismo de acumulación, el impulso de los B puede ser premeiótico, meiótico o postmeiótico.

El impulso premeiótico está basado en el mecanismo de acumulación provocado por la no-disyunción mitótica y la multiplicación preferencial de las

células que contienen cromosomas B en los tejidos de la línea germinal (Matthews and Jones, 1982). El número de Bs encontrado entre folículos varía, y el número de Bs de los folículos es mayor que el de las células somáticas. En el saltamontes *Locusta migratoria* los individuos que poseen 1B en las células somáticas presentan en los folículos células con 0B y 2B, por no-disyunción somática de células con 1B (Kayano, 1971). Las células espermátogonias con 2B son más frecuentes que las que poseen 0B y 1B. Esto se debe a que durante los estadios tempranos del desarrollo del folículo ocurre no-disyunción del B, seguida de la inclusión de los 2B en las células destinadas a la formación de la línea germinal. Otro ejemplo de impulso premeiótico en ortópteros lo constituye *Calliptamus palaestinensis* (Nur, 1963), donde también ocurre una no-disyunción preferencial del B.

Contrariamente a lo antes descrito, en la mayoría de las especies vegetales estudiadas el comportamiento de los B es regular en la mitosis. Sólo en algunas especies los B se presentan como inestables durante las anafases mitóticas. La inestabilidad puede ser al azar como en *Allium cernuum* (Grun, 1959) y probablemente en todo el género *Allium* (Jones, 1995), y en el endosperma del maíz (Alfenito and Birchler, 1990). Cuando la inestabilidad mitótica de los B se presenta de manera regular, podría constituir un mecanismo de acumulación provocando un impulso premeiótico. En *Aegilops mutica* y *Aegilops speltoides*, los cromosomas B sólo están presentes en la parte aérea de la planta y no en sus raíces (Mendelson and Zohary, 1972; Cebriá et al., 1994). En *Crepis capillaris*, la

no-disyunción de los B se produce en las líneas celulares que inician los órganos florales; de esta manera, a partir de una planta con 1B se producen células con 2B y 0B, siendo las de 2B las que proliferan para dar origen a los tejidos reproductores (Parker *et al.*, 1989).

El impulso meiótico está basado en el mecanismo de acumulación que consiste en que un univalente B segregue preferencialmente durante la meiosis para ser incluido dentro de los productos funcionales (Matthews and Jones, 1982). Las hembras de *Myrmeleotettix maculatus* presentan un huso meiótico asimétrico que le permite al B orientarse en anafase I hacia el oocito secundario con mayor frecuencia que hacia el cuerpo polar (Hewitt, 1976; Shaw *et al.*, 1985). En *Pseudococcus affinis*, que posee cromosomas con centrómero difuso y una secuencia de división meiótica invertida (ecuacional seguida de reduccional), el complemento paterno heterocromático segrega en la segunda división hacia uno de los polos y luego degenera; los espermatozoides se forman a partir del complemento eucromático materno. Cuando se transmiten Bs vía paterna, estos permanecen heterocromáticos hasta el final de la profase I y luego se descondensan. Durante anafase I se dividen ecuacionalmente, y durante anafase II segregan preferencialmente con el complemento materno eucromático (Nur and Brett, 1988).

Un ejemplo de impulso meiótico en plantas descrito por Kayano (1957) lo constituye la meiosis femenina de *Lilium callosum*. El univalente B permanece

fuera de placa la metafásica I, en dirección al extremo micropilar del saco embrionario, debido a un huso meiótico asimétrico; de esta manera queda incluido dentro de la oófera en un 70% de los casos (Jones and Rees, 1982).

El impulso postmeiótico es el más conocido en plantas. El mecanismo de acumulación involucrado consiste en no-disyunción del B, durante alguna de las divisiones mitóticas posteriores a la meiosis para formar el gametofito, orientándose los dos B resultantes hacia los gametos funcionales. En centeno, la no-disyunción ocurre durante la primera mitosis del polen y durante la primera mitosis del saco embrionario. Los dos cromosomas B resultantes de la no-disyunción se dirigen con mayor frecuencia hacia el núcleo generativo en el grano de polen y hacia la oófera en el saco embrionario. En centeno, la no-disyunción es controlada mediante regiones (genes) del cromosoma B dos regiones adyacentes al centrómero (sitios pegajosos, *sticky sites*) impiden la separación de las cromátidas, y una región distal sobre el brazo largo controla en posición trans la acción de las anteriores (Jones and Puertas, 1993). Los cromosomas B de maíz poseen también este tipo de impulso, que será desarrollado más adelante.

En algunas especies sin impulso los cromosomas B no poseen mecanismos de acumulación, es decir que la herencia de los B es mendeliana. En *Allium schoenoprasum*, mediante cruzamientos controlados no sólo se demuestra la falta de mecanismos de acumulación, sino también, en algunos individuos, la existencia de la pérdida post-meiótica de los B, o los posibles efectos de los B en la aptitud

darwiniana del polen, con tasas de transmisión iguales o inferiores a las esperadas de un comportamiento mendeliano (Bougourd and Plowman, 1996).

Variación en la tasa de transmisión

Una de las características del modo de herencia no-mendeliano de los cromosomas B es la variación en su tasa de transmisión. Es decir, en algunos individuos sus progenies tienden a incrementar el número de cromosomas B, mientras que en otros tienden a perderlos. Por lo general, la tasa de transmisión varía dentro de las poblaciones. Suele existir un polimorfismo para genes que la controlan o modifican, es decir genes pro- y anti-B. El control genético de la tasa de transmisión fue demostrado en especies animales: *Myrmeleotettyx maculatus* (Shaw and Hewitt, 1985, Shaw et al., 1985), *Pseudococcus affinis* (Nur and Brett, 1988). En el primer caso se determinó la presencia de un gen modificador en los cromosomas A, cuyo efecto es reducir el impulso meiótico en la transmisión materna del B. En el segundo caso, los niveles de impulso de los machos se encuentran bajo la influencia de genes de los cromosomas A, que pueden modificar la tasa de transmisión de los B. Estos genes pueden disminuir la tasa de descondensación de los B durante la meiosis de los machos.

Secale cereale fue la primera especie vegetal donde se seleccionaron genotipos con alta y baja tasa de transmisión de los cromosomas B por el lado femenino. Mediante cruzamientos 2B x 0B pudo obtenerse una gran ganancia selectiva después de una generación de selección (Romera, Jiménez y Puertas,

1991); por el lado masculino, mediante cruzamientos $0B \times 2B$, el progenitor masculino ($2B$) proveniente a su vez de un progenitor femenino con $2B$ ($2B / 2B$), transmitió más los cromosomas B que las plantas con $2B$ provenientes de progenitores femeninos con $0B$ ($0B / 2B$). Respecto de los progenitores femeninos con $0B$, los provenientes a su vez de progenitores femeninos con $2B$ ($2B / 0B$) forman una mayor proporción de descendientes con Bs , que las plantas con $0B$ provenientes de progenitores femeninos con $0B$ ($0B / 0B$). Este efecto, llamado efecto de impronta materna (*imprinting*), hace que la transmisión masculina de los B sea mayor cuando los progenitores de los individuos involucrados en los cruzamientos provienen a su vez de progenitores femeninos con Bs . Entonces, en los cruzamientos $2/0 B \times 2/2 B$ se obtiene la mayor tasa de transmisión, y en los cruzamientos $0/0 B \times 0/2 B$ la menor, mientras en los cruzamientos $2/0 B \times 0/2 B$ y $0/0 B \times 2/2 B$ se obtienen valores intermedios de transmisión. Este efecto materno no fue hallado en la transmisión femenina, en cruzamientos $2B \times 0B$ (Puertas et al., 1990). La respuesta a la selección para alta y baja tasa de transmisión masculina fue menor que la obtenida para la transmisión femenina. Por el lado femenino, la tasa de transmisión está controlada por genes en los cromosomas B , mientras que por el lado masculino la tasa depende de genes en los B y del efecto de impronta materna (*imprinting*) (Jones and Puertas, 1993; Jiménez et al., 1995). La variación de la tasa de transmisión se encuentra afectada genéticamente por la frecuencia de formación de quiasmas entre los B (Jiménez et al., en prensa).

En las especies *Hypochoeris maculata* (Parker et al., 1982) y en *Aegilops speltoides* (Cebriá, Navarro y Puertas, 1994) también fue demostrada la existencia de genes de transmisión.

Dinámica poblacional

La dinámica poblacional tiene en cuenta la interacción de todas las fuerzas que actúan para establecer y generar los polimorfismos equilibrados para cromosomas B en las poblaciones. De acuerdo con los tipos de fuerzas consideradas como principales en el establecimiento y mantenimiento de los polimorfismos, se establecen dos modelos posibles para explicar su existencia y mantenimiento en las poblaciones: heterótico y parasitario (Figura 1, pág. 34).

Según el modelo heterótico los B se mantienen en las poblaciones por las ventajas adaptativas que en bajas dosis les confieren a los individuos, compensando las pérdidas debidas a la disminución de la ventaja adaptativa de los individuos que los portan en altas dosis. Ejemplo de este modelo es *Allium schoenoprasum*, donde los B no poseen mecanismos de acumulación; ellos se mantendrían en las poblaciones porque en bajas dosis aumentan la tasa de germinación (Jones, 1995; Bougourd and Plowman, 1996). Sin embargo, los casos que aportan evidencia al modelo heterótico parecen ser excepcionales.

Según el modelo parasitario, los B sobreviven en las poblaciones por sus mecanismos de acumulación, que les proporcionan un impulso hacia la siguiente

generación y que compensarían las pérdidas sufridas por la selección natural contra los individuos con altas dosis. Ejemplos de este modelo son *Myrmeleotettix maculatus*, *Pseudococcus affinis* y *Secale cereale*. En *Myrmeleotettix maculatus* el polimorfismo equilibrado se mantiene como resultado entre el impulso meiótico femenino y una fuerte selección contra los individuos portadores de 2B y 3B. Como segundo factor modulador de las frecuencias de Bs, existen genes en los A que modifican la tasa de transmisión (modificadores, genes anti-B), su frecuencia y la magnitud de sus efectos en diferentes poblaciones (Shaw and Hewitt, 1985; Shaw et al., 1985). En *Pseudococcus affinis*, la frecuencia de equilibrio depende de un balance entre el impulso meiótico de los machos y la eliminación por reducción de la eficacia reproductora de los portadores. El grado de impulso está controlado por genes en los A; estos genes pueden disminuir la tasa de descondensación de los B durante la meiosis de los machos, y por lo tanto su impulso. La distribución de estos genes anti-B en las poblaciones podría determinar las diferentes frecuencias de equilibrio encontradas (Nur and Brett, 1988).

En *Secale cereale* se estudió la frecuencia de plantas con Bs a lo largo de tres generaciones sucesivas, en poblaciones con diferentes frecuencias. Las frecuencias naturales de Bs se mantuvieron constantes, indicando un polimorfismo estable y que las poblaciones pueden poseer diferentes frecuencias de equilibrio. Las diferencias en las frecuencias no se deben a ningún efecto diferencial entre las poblaciones en la aptitud darwiniana de los portadores de B, ni a variación citológica de los B (Romera et al., 1989). Se crearon cuatro poblaciones artificiales

a partir de dos poblaciones con frecuencias naturales de 20% y 60% de Bs, dos con sus frecuencias naturales (controles) y dos con las frecuencias cambiadas. Las poblaciones control mantuvieron las frecuencias naturales, mientras que las otras recuperaron sus frecuencias originales al cabo de tres generaciones. Esto indica que las frecuencias naturales originales representan un polimorfismo estable y balanceado, posiblemente debido al efecto de impronta materna (*imprintig*) y a los genes presentes en los B que afectan la tasa de transmisión. Las poblaciones poseen diferentes frecuencias de los alelos que controlan la tasa de transmisión; este politipismo sería el responsable de las diferentes frecuencias de cromosomas B en las poblaciones naturales (Romera, **et al.**, 1991).

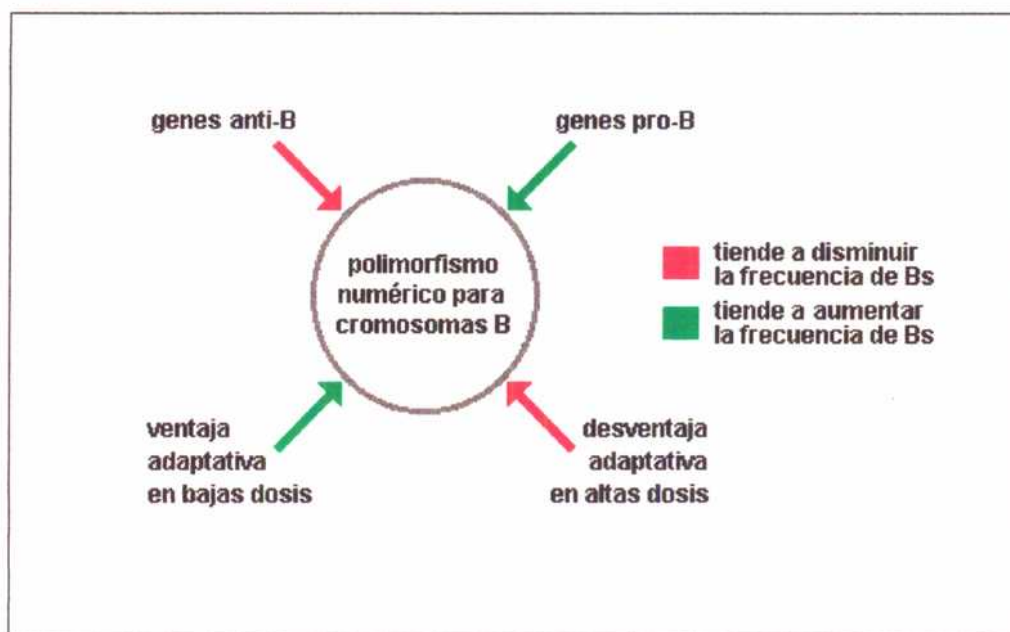


Figura 1. Posibles fuerzas que intervendrían en el establecimiento y mantenimiento de los polimorfismos numéricos para Bs.

CROMOSOMAS B DE MAÍZ

Características generales

La existencia de cromosomas B en maíz fue determinada por primera vez en 1911 por Kuwada en la variedad *sweet corn*; más tarde fueron descritos en diversas variedades comerciales tales como *flint corn*, *pop corn*, *dent corn* y *flour corn* (Avdulow, 1933; Longley, 1938; Randolph, 1941). Los cromosomas B de maíz son fácilmente distinguibles de los cromosomas A, porque en las preparaciones de metafases mitóticas se tiñen más intensamente y son más pequeños y subtelocéntricos. Los B poseen una elevada proporción de heterocromatina (Carlson, 1986). Durante paquitene pueden reconocerse claramente sus regiones heterocromáticas y eucromáticas. Poseen una región heterocromática pericentromérica, una región eucromática adyacente que mide un tercio de la longitud total del cromosoma, y una porción heterocromática distal dividida en regiones más o menos separadas (Randolph, 1941).

En maíz, los cromosomas B no producen características fenotípicas particulares cuando se encuentran en dosis bajas; sin embargo, presentan diversos efectos genéticos, fisiológicos y morfológicos cuando se encuentran en dosis elevadas (15-25 Bs) (Randolph, 1941). Estos efectos consisten en: 1) reducción de la fertilidad (granos abortados, con endosperma nulo o sin desarrollo y óvulos sin desarrollar), 2) disminución del vigor, 3) mayor volumen de los granos

de polen y aumento del porcentaje de granos abortados. Estos efectos acumulativos de los B podrían deberse a la acción de genes específicos situados en ellos o a la presencia de un mayor contenido de heterocromatina nuclear (Randolph, 1941). También existe evidencia de que algunas plantas con bajo número de nudos paquiténicos heterocromáticos (*Knobs*) son más fértiles cuando tienen pocos B (Randolph, 1941).

En cuanto a la relación con el endofenotipo en maíz, el aumento de los cromosomas B produce: 1) La disminución de la duración del ciclo mitótico; este efecto, descrito también en *Lolium perenne* y *Secale cereale*, se acentúa cuando aumenta el número de Bs, efecto que quizá no sea específico de los B pues el tamaño celular, el volumen nuclear y la duración del ciclo mitótico son parámetros que tienen estrecha relación con el contenido de ADN de muchas especies (Carlson, 1978; Evans *et al.*, 1972). 2) Aumento de la recombinación de los cromosomas A. Mediante translocaciones A-B se ha determinado que diferentes porciones del B controlan el aumento del entrecruzamiento. Recientemente se estableció que la región heterocromática distal del cromosoma B posee un pronunciado efecto sobre el entrecruzamiento (Carlson *et al.*, 1993).

Comportamiento meiótico

En las plantas con 1B, el univalente B se distribuye al azar en la meiosis I y ocasionalmente se pierde en el citoplasma (Randolph, 1941). Powers y Dahl (1937) determinaron que de un total de 114 anafases observadas, sólo en 4 el

univalente B permaneció rezagado, y que en la mayor parte de los casos se ubicaba próximo a uno de los polos; luego, en telofase I, se integraba a uno de los núcleos en casi todos los casos. Durante la meiosis II segregó regularmente, y el 50% de las microsporas recibió un cromosoma B (Randolph, 1941). Power y Dahl (1937) observaron que, de un total de 148 células en metafase II, sólo en 7 el cromosoma B no se orientaba correctamente en la placa ecuatorial; de un total de 67 meiocitos en telofase II, ninguno mostró al B rezagado; y en 100 tétradas observadas sólo 7 presentaron micronúcleos en adición a los núcleos normales.

La pérdida de cromatina durante la meiosis en plantas con 1B no es mayor que la determinada en individuos con 0B y 2B (Powers and Dahl, 1937). Según Carlson y Roseman (1992), la pérdida meiótica del B puede ocurrir de dos maneras: a) el univalente B permanece rezagado en anafase I, quedando excluido de los núcleos telofásicos, b) el univalente B se divide ecuacionalmente en anafase I, y las cromátidas migran a sendos polos, quedando rezagadas durante anafase II y provocando su consiguiente pérdida.

En las plantas con 2B, los B forman regularmente un bivalente durante la profase de la primera división meiótica, el cual segrega durante la anafase I, excepto cuando, en raras ocasiones, ocurre desinapsis y eliminación en el citoplasma; luego los 2B se dividen normalmente durante la meiosis II (Randolph, 1941).

De estas observaciones Randolph (1941) asumió que, salvo raras excepciones, las microsporas y los gametos masculinos deberían recibir un cromosoma B. Por lo tanto, debería esperarse que en la progenie de un cruzamiento $0B \times 2B_m$ el número regular fuera 1B, con algunos ocasionales casos de 0B. El supuesto número de Bs presentes en las microsporas fue correcto: de 130 microsporas observadas 116 poseyeron 1B y 14 0B, y ninguna tuvo más de 1B. Sin embargo el esperado número de Bs en la progenie del cruzamiento $0B \times 2B_m$ fue erróneo, pues se obtuvieron 22 individuos con 0B, 37 con 2B y 2 con 4B y en ninguno se registró 1B. Sin embargo, las dosis de Bs obtenidas en la progenie, a partir de los cruzamientos recíprocos $2B \times 0B_m$, estuvieron de acuerdo con el número de Bs esperado a partir de las observaciones realizadas en microsporas (0B y 1B). De acuerdo con estas observaciones, Randolph (1941) propuso que es posible que algún tipo de comportamiento anómalo de los B en la división del núcleo generativo masculino fuese el responsable de aquellos resultados inesperados.

En las plantas con 3B se determinó que de un total de 154 células examinadas en diacinesis, 91 contenían un bivalente B y un univalente B, y 63 un trivalente B. En anafase I dos B se dirigen a un polo, mientras que 1B se dirige al otro. En los casos donde uno de los cromosomas B permaneció como un univalente, éste migró precozmente a uno de los polos. La pérdida cromosómica durante telofase I fue escasa, puesto que no se encontró cromatina fuera de los

núcleos en formación. En el estadio de tétrada pudo observarse pérdida cromosómica sólo en 3 de 500 observaciones (Powers and Dahl, 1937)

Herencia

Los cromosomas B del maíz poseen impulso postmeiótico durante la formación del grano de polen. La herencia de los cromosomas B a través de la vía materna es mendeliana; no se detectan mecanismos que provoquen impulso positivo alguno. Randolph (1941) y Blackwood (1956) analizaron la progenie de los cruzamientos recíprocos entre plantas sin Bs y plantas con uno y dos B, determinando una transmisión regular (mendeliana) a través de la vía materna. Pero, por la vía paterna los B experimentaban el fenómeno de no-disyunción después de la meiosis.

Roman (1947) pudo de determinar inequívocamente la existencia de no-disyunción, utilizando translocaciones entre el cromosoma B y los miembros regulares del complemento normal (A). Encontró que los B^A (cromosomas translocados con centrómero del B y marcadores genéticos del cromosoma A) sufren no-disyunción regularmente en la segunda mitosis del polen, produciendo células espermáticas con cero y dos B^A . Como resultado de la doble fecundación se producen semillas en las que el embrión y el endosperma difieren en la presencia o ausencia de los marcadores genéticos llevados por los dos B^A . Demostró también que las células espermáticas portadoras de los dos B^A

avanzaban en la fecundación de la oófera a los que carecen de Bs; a este efecto se lo denominó fecundación preferencial (Roman, 1948) (Figura 2, pág. 41).

Se interpretó que la no-disyunción en la segunda mitosis del polen, junto con la fecundación preferencial por la célula espermática portadora de los dos B, constituyen el mecanismo de acumulación necesario para generar el impulso postmeiótico que incrementa el número de Bs en una población.

Se propusieron dos explicaciones para la fecundación preferencial: 1) la célula espermática con los dos B posee cierta capacidad para fecundar a la oófera; 2) durante la no-disyunción las dos cromátidas del B se orientan preferencialmente hacia el núcleo espermático destinado a unirse con la oófera. Carlson (1969) determinó que la primera hipótesis era la correcta. Utilizando plantas con dos translocaciones diferentes (TB-9b y TB-4a) pudo seguir genéticamente la no-disyunción en la segunda mitosis del polen, no encontrando evidencias para una migración de los dos cromosomas B translocados hacia algún polo específico. Por otro lado, pudo determinar que los núcleos espermáticos con y sin B migran al azar a través del tubo polínico. Este hecho también indicaría que no existe una orientación predeterminada para los 2B luego de la no-disyunción (Shi et al., 1996).

Entonces, el mecanismo de acumulación en maíz consiste en dos elementos: 1) no-disyunción en la segunda mitosis del polen, y 2) fecundación

preferencial (dirigida) a la oósfera. El primer fenómeno puede ocurrir con frecuencias muy elevadas (50 a 100%). Cuando un B sufre no-disyunción durante la segunda mitosis del polen, se generan dos núcleos espermáticos diferentes, uno con dos Bs y otro sin Bs. La célula espermática portadora de los dos B fecunda la oósfera en aproximadamente 60 a 70% de los casos, mientras que la desprovista de Bs se une a los núcleos polares, dando lugar al desarrollo del endosperma (Figura 2, pág. 41).

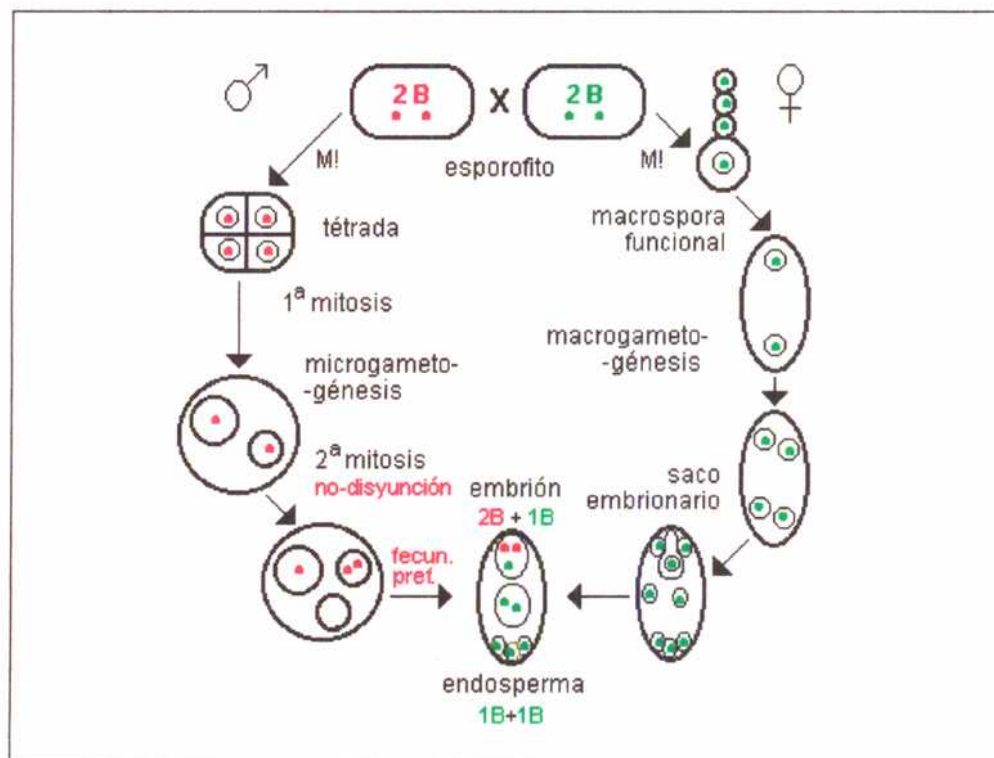


Figura 2. Impulso postmeiótico masculino de los B de maíz.

Existen dos posibles razones que explicarían la fecundación preferencial, un efecto propio de la región proximal de los B, o una ventaja no específica conferida a la célula espermática por la presencia de cromatina extra. La naturaleza de esta

ventaja es desconocida. No obstante, pudo encontrarse una línea de maíz cuya fecundación preferencial resultaba bloqueada cuando se la utilizaba como progenitor femenino (Carlson, 1969, 1978; 1986).

Por otro lado, mediante la prueba de heterofecundación, pudo determinarse que los núcleos polares no intervienen en la fecundación preferencial. Esta prueba consiste en la selección de la descendencia cuyo endosperma fue originado por un núcleo espermático perteneciente a un grano de polen y el embrión por un núcleo perteneciente a otro grano de polen. La heterofecundación no afectó a la fecundación preferencial, es decir el núcleo espermático portador de los 2B es el que lleva ventaja en la fecundación de la oósfera mientras que al núcleo sin Bs de otro grano de polen no le queda otra alternativa que fecundar a los núcleos polares. Por lo tanto, la fecundación preferencial no se debe a una afinidad entre los núcleos polares y el núcleo espermático sin Bs (Carlson, 1970; Carlson, 1986).

Beckett (1982) propuso un segundo mecanismo de acumulación, utilizando heterocigotos para translocaciones A-B. Los heterocigotos producen tres tipos de granos de polen: $A^B B^A$; $A B^A$; A. Asumiendo que no hay pérdida meiótica de B^A , el tipo $A B^A$ tendría menor frecuencia por la duplicación génica, y considerando sólo los tipos $A^B B^A$ y A, éstos deberían poseer igual frecuencia de transmisión (50%). Sin embargo determinó que el par cromosómico $A^B B^A$ era transmitido con más frecuencia (56-59%) que A. Los granos de polen con el cromosoma B poseerían mayor capacidad competitiva para la fecundación.

Genes

La capacidad de los cromosomas B del maíz para llevar a cabo la no-disyunción está controlada genéticamente por los propios B; por lo tanto, los B tienen cierta independencia respecto de los cromosomas A en cuanto a la no-disyunción (Carlson, 1986). Mediante translocaciones A-B y deleciones en distintas porciones del B Carlson (1986) demostró que existen cuatro regiones (genes) en los B que controlan la no disyunción. El B^A posee idéntica capacidad de no-disyunción que los B; sin embargo, la no-disyunción sólo era posible si el A^B estaba presente en el polen. La no-disyunción no tiene lugar en un grano de polen de constitución genética $A B^A$ (Roman, 1949). Se encontró más tarde que un cromosoma B estándar puede sustituir al A^B necesario para la no-disyunción. Estos hallazgos demuestran que la región distal eucromática del B, llamada región 1, es necesaria para inducir la no-disyunción, actuando sobre la región centromérica. Puesto que puede actuar entre cromosomas tiene un efecto en trans sobre la no-disyunción (Ward, 1973; Carlson, 1986) (Figura 3, pág. 44).

Mediante diversas deleciones en la cromatina del cromosoma B, y siguiendo genéticamente la no-disyunción mediante translocaciones A-B, se determinaron otras tres regiones que controlan la no-disyunción del B. La región 2 corresponde a la eucromatina proximal y posiblemente a parte de la heterocromatina centromérica, y posee un efecto trans, porque la presencia de Bs intactos restaura la no-disyunción anulada por la falta de esta región. La región 3

es el sitio correspondiente a la heterocromatina centromérica, donde las cromátidas no se dividen y migran hacia el mismo polo durante la anafase; por lo tanto, este sitio actúa en cis durante la no-disyunción. La región 4 incluye el brazo corto del cromosoma B; la falta de esta región disminuye la tasa de no-disyunción, sin eliminarla completamente. Las regiones 1, 2 y 3 son esenciales para la no-disyunción, mientras que la región 4 sólo aumenta la tasa de la no-disyunción (Figura 3, pág. 44) (Carlson, 1978; Carlson and Chou, 1981; Carlson, 1986).

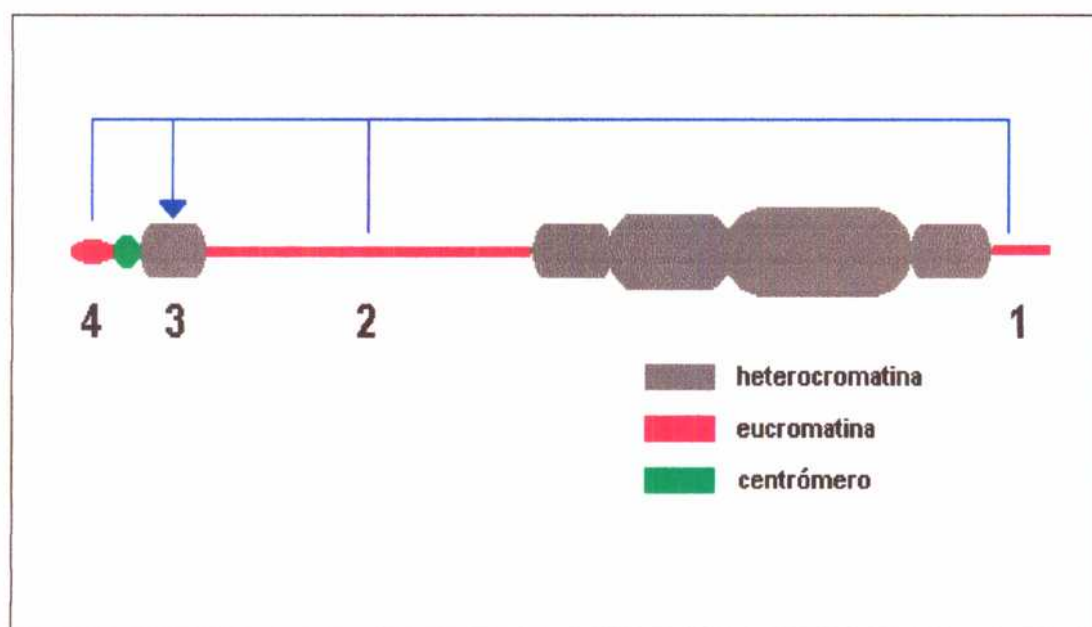


Figura 3. Las cuatro regiones que controlan la no-disyunción del B

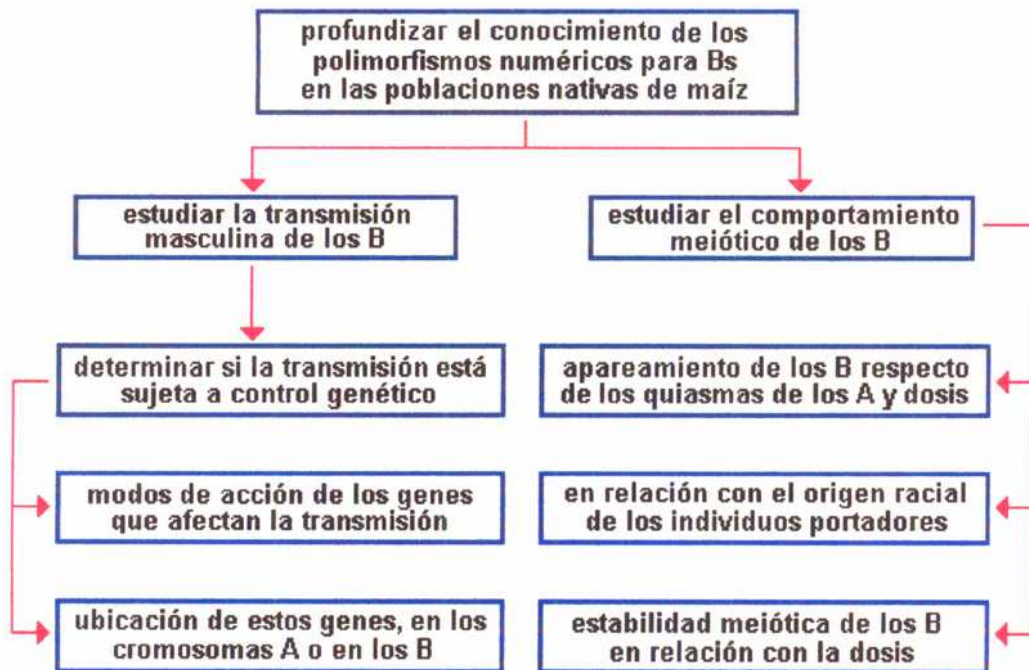
Los cromosomas B del maíz poseen genes que incrementan la tasa de recombinación de los cromosomas A en la microsporogénesis. Utilizando translocaciones pudo determinarse que el aumento del entrecruzamiento en los pares A A-B está controlado por la porción distal del cromosoma B (Carlson *et al.*, 1993). Los cromosomas B también suprimen su propia pérdida en la meiosis

cuando se encuentran en dosis simple. Para que el univalente B migre durante anafase I y se integre a un polo en telofase I, intervienen al menos las siguientes dos regiones del cromosoma B: a) una región heterocromática distal, y b) una región proximal (Figura 3, pág. 44). Si se delecionan algunas de estas regiones, el B se pierde en la meiosis debido a: 1) quedar rezagado en anafase I y no incluirse en ninguno de los dos núcleos en telofase I; 2) dividirse ecuacionalmente en la primera meiosis y quedar rezagado en anafase II. La existencia de este sistema genético no debería sorprender, puesto que en maíz suele encontrarse a los B como univalentes (Carlson and Roseman, 1992).

Los cromosomas B del maíz tienen al menos dos sistemas para reducir su pérdida meiótica: 1) incrementando el entrecruzamiento para formar bivalentes, y 2) la presencia de mecanismos que suprimen la pérdida meiótica cuando se encuentran como univalentes. La no-disyunción junto con la fecundación preferencial actuarían incrementando los B en las poblaciones de acuerdo con la opinión de Roman (1948). Sin embargo, la no-disyunción puede interpretarse como un mecanismo que incrementa el número de individuos con dos B en las poblaciones, aún cuando la frecuencia de Bs sea baja, resultando una meiosis regular debida al apareamiento bivalente en estos individuos (Carlson and Roseman, 1992).

OBJETIVOS

DESCRIPCIÓN GENERAL



TRANSMISIÓN MASCULINA DE LOS CROMOSOMAS B

Nuestro grupo de investigación determinó durante 1991-92 que existen, con elevada frecuencia, polimorfismos numéricos para cromosomas B en las poblaciones de las razas nativas de maíz. Éstas son muy variables en cuanto a la frecuencia de individuos con cromosomas B (0-94%). Con el fin de determinar los modos de herencia masculina de los cromosomas B dentro de las poblaciones se planteó como primer objetivo:

→ Estudiar la transmisión masculina de los B, evaluando la no-disyunción y la variación entre los cruzamientos 0Bx1B en la población VAV 6313 de la raza *Pisingallo*. Luego de finalizar con éxito este primer paso, se propuso como segundo objetivo:

→ Determinar, mediante dos generaciones de selección para alta y baja tasa de transmisión, si la variación encontrada para la tasa de transmisión de los B en G_0 en la población VAV 6313 se debe a la existencia de un polimorfismo para genes que afectan a la tasa de transmisión. Luego de la determinación de la existencia de genes que afectan la tasa de transmisión, se planearon los siguientes objetivos:

→ Determinar, mediante el análisis meiótico de los B en individuos seleccionados para alta y baja tasa de transmisión, si los genes que afectan la tasa de transmisión influyen en el comportamiento meiótico de los cromosomas B.

→ Determinar si los genes que afectan la tasa de transmisión se encuentran en los cromosomas A o B.

→ Determinar si los genes que afectan la tasa de transmisión actúan en: 1) La tasa de fecundación por los núcleos espermáticos portadores de 2B, o 2) La frecuencia con la que el receptor femenino con 0B es fecundado por la célula espermática portadora de dos Bs. Esto último mediante la realización de cruzamientos 0Bx2B entre los grupos de individuos con alta y baja tasa de transmisión de los cromosomas B.

COMPORTAMIENTO MEIOTICO DE LOS CROMOSOMAS B EN DIFERENTES RAZAS

Se investigó el comportamiento meiótico de los cromosomas B en la raza *Amarillo chico* y *Pisingallo*, y en los híbridos interraciales obtenidos entre ambas razas. Con el fin de determinar el comportamiento meiótico de los cromosomas B dentro de las razas e híbridos se plantearon los siguientes objetivos:

- Analizar la frecuencia de quiasmas de los B en relación con: a) la frecuencia de quiasmas de los cromosomas A, b) la dosis de Bs, y c) el origen racial de los B.
- Evaluar la pérdida meiótica de los cromosomas B en relación con el origen racial de los individuos portadores de Bs.
- Evaluar la pérdida meiótica de los cromosomas B en relación con su dosis, y en relación con su frecuencia de quiasmas.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES EMPLEADOS

Los materiales empleados fueron las poblaciones pertenecientes a las razas *Pisingallo* y *Amarillo Chico* VAV 6313 y VAV 6451, respectivamente.

La población VAV 6313 cultivada por Ramón Humberto Rivera fue coleccionada por C.L.M. Rosato, A.M. Chiavarino, y el Dr. C.A. Naranjo en Los Tordillo, Piedras Blancas, Dpto. Ambato, Pcia. Catamarca, Argentina (1600 m). La determinación fue llevada a cabo por el Ing. Agr. J. Cámara Hernandez, y se conserva en el banco de germoplasma del laboratorio Vavilov (Facultad de Agronomía, UBA) y en el Instituto Fitotécnico de Santa Catalina (UNLP). La frecuencia de individuos con Bs en esta población es 45.6% (Rosato *et al.*, aceptado).

La población VAV 6451 fue coleccionada y determinada por el Ing. Agr. J. Cámara Hernandez en El Condado, Dpto. Santa Victoria, Pcia. Salta, Argentina (2000m). Esta población se conserva en el banco de germoplasma del laboratorio Vavilov (Facultad de Agronomía, UBA). La frecuencia de individuos con Bs en esta población es 59.1% (Rosato *et al.*, aceptado).

TRANSMISIÓN DE LOS CROMOSOMAS B

Métodos citogenéticos

Las raíces primarias de los granos de maíz fueron pretratadas con 8-hidroxiquinoleína (0,02 M) durante 3 horas a 20 °C, y luego fijadas con etanol absoluto: ác.acético glacial (3:1). La tinción de los ápices se realizó con hematoxilina 2% y citrato férrico como mordiente (Sáez, 1960; Núñez, 1968).

La inflorescencias masculinas inmaduras fueron fijadas con etanol abs.: ác.acético gl. (3:1). La tinción de los meiocitos se realizó también con hematoxilina 2% y citrato férrico como mordiente.

Cruzamientos realizados para la obtención de G₀

El experimento se realizó con individuos de una población de la raza nativa *Pisingallo* del NO. argentino (VAV 6313) (Figura 6, pág. 58). Se tomó una muestra aleatoria de 145 individuos (granos). Los granos fueron identificados individualmente y puestos a germinar en cajas de Petri, y se determinó el número de Bs de cada individuo, tal como fue descripto. Cada una de las plántulas, una vez individualizadas y determinado su número de Bs, fueron transplantadas al invernáculo. En el período de prefloración se realizaron fijaciones de parte de la inflorescencia masculina: 1) en aquellas plantas en las que no pudo determinarse el número de cromosomas B en el ápice de la raíz primaria; 2) en las que portaban

cromosomas B, con el fin de corroborar la estabilidad mitótica del B en las líneas somática y germinal. El resto de la panoja fue protegida de la desecación hasta la formación de polen (Figura 4, pág.55).

Siempre que se indique la fórmula de un cruzamiento como $nB \times nB$, el primer término corresponde al progenitor femenino y el segundo al masculino. Determinadas e identificadas cada una de las plantas portadoras de 0B, 1B, 2B y 3B se realizaron los cruzamientos 0Bx1B programados (Figura 6, pág. 58). Los mismos se llevaron a cabo: 1) cubriendo con un sobre las espigas femeninas de los individuos que se usaron como progenitor femenino con 0B, para evitar la libre polinización; 2) cubriendo también con un sobre la inflorescencia (panoja) del progenitor masculino portador de 1B, para recoger el polen, aproximadamente media hora antes de usarlo en los cruzamientos (Figura 5, pág. 56); 3) vertiendo luego el polen del individuo con 1B sobre los estigmas del individuo con 0B; 4) realizando, por último, la cosecha de los cruzamientos se realizó luego de 45 días de realizado el cruzamiento.

Una vez cosechada la descendencia de la primera generación (G_0), se procedió al recuento del número de cromosomas B heredados en esta generación, en al menos 24 individuos provenientes de cada una de las espigas resultantes de veinte cruzamientos. Las raíces primarias fueron pretratadas y fijadas como fue descrito anteriormente. Luego se llevaron a cabo los recuentos cromosómicos en un total de 662 individuos. El cálculo de la tasa de transmisión masculina de los B

para cada cruzamiento (es decir, para cada espiga cosechada) se realizó dividiendo el número medio de los cromosomas B transmitidos a la descendencia por el número de cromosomas B del progenitor masculino (Shaw and Hewitt, 1985).

$$T_t = \frac{\text{número medio de Bs de la progenie}}{\text{número de Bs de los progenitores}}$$

Cruzamientos realizados para la obtención de G₁ y G₂

La generación siguiente (G₁) se realizó seleccionando las espigas de G₀ que mostraron las tasas de transmisión más bajas y más altas ($T_{tB}=0,27-0,28$ y $T_{tA}=0,88-0,92-0,98$) (Figura 6, pág. 58). Los individuos con 2B provenían de la no-disyunción del B durante la segunda mitosis del polen de los individuos con 1B. Se tomaron 55 granos de cada espiga seleccionada de baja transmisión. Se los identificó y se determinó el número de Bs de cada planta (0B ó 2B). Al mismo tiempo se tomaron 35 granos de cada espiga seleccionada para alta transmisión con las que se procedió de la misma manera. Las plántulas fueron transplantadas al invernáculo. Durante la prefloración se fijó parte de las inflorescencias masculinas inmaduras, tal como fue descrito anteriormente (Figura 4, pág. 55). Finalmente, con las plantas individualizadas según el número de Bs (0B ó 2B) se realizaron los cruzamientos 0Bx2B programados para ambos grupos (alta y baja) separadamente, tal como fue descrito anteriormente para la obtención de la G₀ (Figura 5, pág. 56).



Figura 4. Extracción de parte de la inflorescencia masculina inmadura para su posterior análisis meiótico.

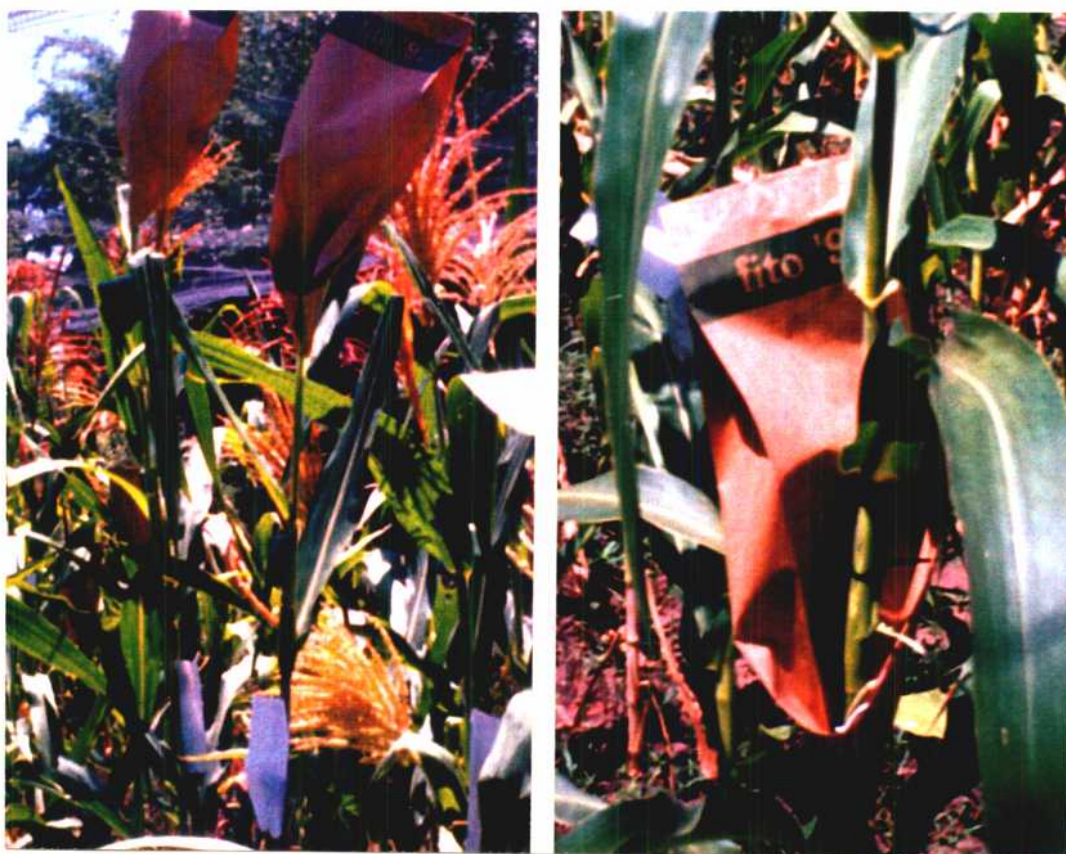


Figura 5. a) En la porción superior de la planta la inflorescencia masculina se encuentra ensobrada para recoger el polen; en la parte media de la caña una inflorescencia femenina se encuentra ensobrada (sobre de papel blanco) para evitar la libre polinización. b) Cruzamiento realizado.

Una vez cosechada la progenie G_1 se procedió al recuento del número de cromosomas B heredados en esta generación, en al menos 24 individuos de cada una de las 19 espigas resultantes de los cruzamientos $0B \times 2B$ de alta y baja transmisión. Para este estudio se pretrataron y fijaron las raíces primarias de estos individuos. El cálculo de la tasa de transmisión masculina para cada cruzamiento se realizó, de manera idéntica a la descrita para G_0 , dividiendo el número medio de Bs transmitidos a la descendencia por el número de Bs del progenitor masculino ($2B$ para G_1).

La generación siguiente (G_2) se obtuvo mediante la selección de las espigas de G_1 que mostraron las tasas de transmisión más bajas y más altas ($T_{tB}=0,34-0,46$ y $T_{tA}=0,75-0,84$) (Figura 6, pág. 58), y cruzamientos $0B \times 2B$. Los individuos de $2B$ provienen de la no-disyunción del B durante la segunda mitosis del polen de los individuos portadores de $2B$. Se tomaron 65 granos de cada espiga seleccionada de alta y baja transmisión. Se los identificó y fueron puestos a germinar en cajas de Petri. Luego se determinó el número de cromosomas de cada planta ($0B$ ó $2B$). Las plántulas fueron transplantadas al campo experimental. Durante la prefloración se llevaron a cabo fijaciones de parte de la inflorescencia masculina inmadura, de manera similar a la descrita anteriormente (Figura 4, pág. 55). Finalmente, con las plantas individualizadas según el número de Bs ($0B$ ó $2B$) se realizaron los cruzamientos $0B_f \times 2B_m$ programados en ambos grupos (alta y baja transmisión) separadamente, tal como fue descrito anteriormente para la obtención de la G_0 .

Una vez cosechada la progenie G_2 se procedió al recuento del número de cromosomas B heredados en esta generación, en aproximadamente 29 individuos de cada una de las siete espigas del grupo de alta transmisión y en ocho del de baja. El cálculo de la tasa de transmisión masculina para cada cruzamiento se realizó de la manera ya descripta para G_0 y G_1 .

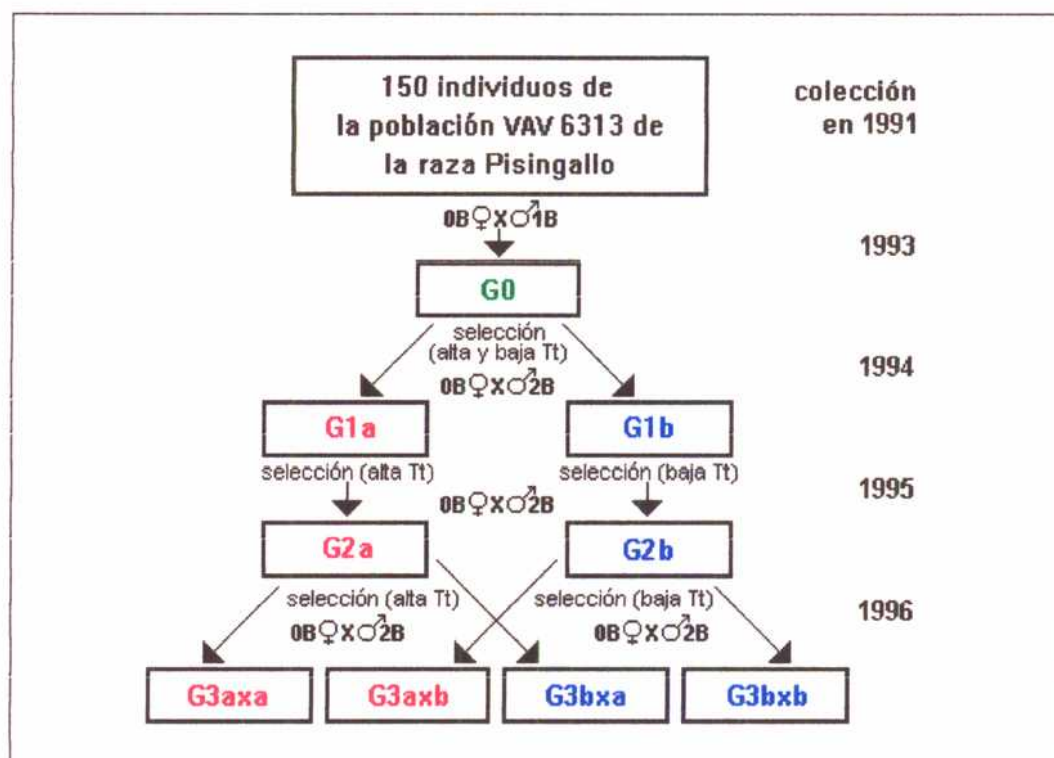


Figura 6. Esquema de los cruzamientos realizados

Las tasas de alta y baja transmisión de cromosomas B en las generaciones G_1 y G_2 fueron comparadas mediante un ANÁLISIS KRUSKAL-WALLIS (utilizando el Programa STAT-GRAPH).

Nota 1: A los valores de las tasas de transmisión obtenidas en G_0 , G_1 y G_2 , mediante el recuento cromosómico de la progenie, se les agregaron los recuentos realizados en los individuos que fueron empleados como progenitores seleccionados para la siguiente generación.

Nota 2: Las tasas de transmisión de cromosomas B en muchos de los cruzamientos seleccionados no coinciden con los valores más extremos de cada generación, porque: 1) las espigas que presentaron los mayores o menores valores de tasa de transmisión, luego de su determinación, muchas veces produjeron insuficiente cantidad de granos como para iniciar la siguiente generación; 2) las tasas de transmisión de las espigas seleccionadas en algunos casos sufrieron pequeños cambios respecto del valor seleccionado, luego del agregado de los datos de las determinaciones del número de Bs en los individuos tomados para la siguiente generación.

Cruzamientos realizados para la obtención de G_3

Se tomaron 130 granos de la espiga de alta tasa de transmisión resultante de la G_2 ($Tt=0,724$) y 70 granos de una espiga de baja transmisión ($Tt=0.48$). Se los individualizó y luego se determinó el número de cromosomas de cada planta (0B ó 2B). Las plántulas fueron transplantadas al campo experimental. Finalmente, con las plantas identificadas por el número de Bs (0B ó 2B) se realizaron los cruzamientos 0Bx2B programados dentro y entre ambos grupos (alta y baja

transmisión) (Figura 6, pág. 58). Los cruzamientos fueron realizados tal como fue descrito anteriormente para la obtención de la G_0 (Figura 5, pág. 56).

La G_3 se obtuvo mediante cuatro tipos de cruzamientos: 1) 5 cruzamientos $0B(\text{alta}) \times 2B(\text{alta})$ (control), 2) 6 cruzamientos $0B(\text{alta}) \times 2B(\text{baja})$, 3) 6 cruzamientos $0B(\text{baja}) \times 2B(\text{alta})$, y 4) 5 cruzamientos $0B(\text{baja}) \times 2B(\text{baja})$ (control) (Figura 6 y 7, págs 58 y 60).

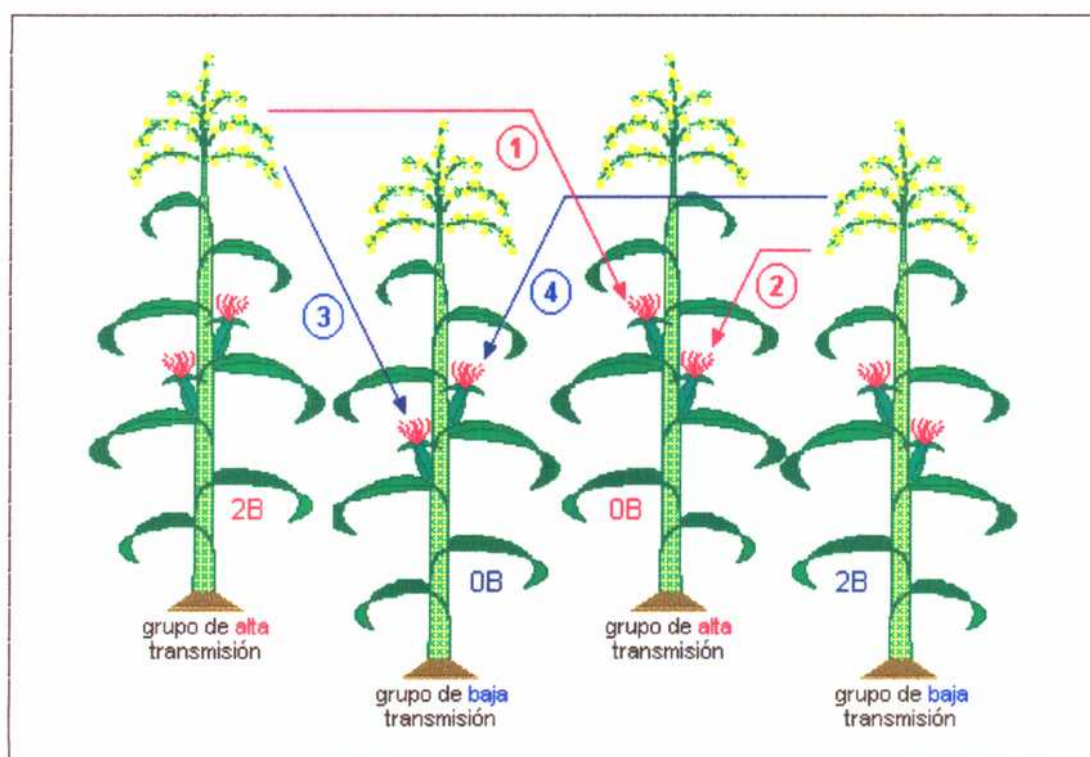


Figura 7. Esquema de los cruzamientos de la G_3

Una vez cosechada la progenie G_3 se procedió al recuento del número de cromosomas B transmitidos en esta generación, en 25-30 individuos de cada una

de las 22 espigas resultantes de los cruzamientos obtenidos (Figura 6, pág. 58). Para esto se pretrataron y fijaron las raíces primarias de estos individuos. El cálculo de la tasa de transmisión masculina para cada cruzamiento se realizó en la manera ya descripta.

Las tasas de transmisión de cromosomas B de la generación G_3 fueron comparadas mediante un ANOVA de 2 factores (modelo fijo).

Comportamiento meiótico dentro de los grupos con diferente tasa de transmisión

Durante el período de prefloración se realizaron fijaciones de parte de la inflorescencia masculina en diferentes individuos de la población parental, G_0 y G_1 con diferente tasa de transmisión. El resto de la inflorescencia fue protegida de la desecación a fin de que se desarrollara normalmente hasta la formación del polen (Figura 4, pág. 55). Los meiocitos fueron teñidos de la misma manera que la descripta en la sección métodos citogenéticos.

COMPORTAMIENTO MEIOTICO DE LOS CROMOSOMAS B

Cruzamientos realizados

Se llevaron a cabo cruzamientos controlados entre individuos portadores de diferentes dosis de cromosomas B pertenecientes a una población de la raza *Amarillo chico* (VAV 6351), entre individuos portadores de diferentes dosis de Bs pertenecientes a una población de la raza *Pisingallo* (VAV 6313), y entre ambas razas. Como resultado de estos últimos se obtuvo una F1 de híbridos interraciales con diferentes dosis de Bs de distinto origen.

Híbridos y controles A(1B): Se obtuvieron 3 híbridos a partir de un cruzamiento entre un progenitor femenino de la raza *Amarillo chico* (1B) y un progenitor masculino de la raza *Pisingallo* (2B), y 7 controles mediante un cruzamiento intrarracial y una autofecundación en la población VAV 6351 (*Amarillo chico*).

Híbridos y controles B(1B): Se obtuvieron 3 híbridos a partir de un cruzamiento interracial entre un progenitor femenino de la raza *Pisingallo* (1B) y un progenitor masculino de la raza *Amarillo chico* (1B), y 5 controles mediante un cruzamiento intrarracial y una autofecundación en la población VAV 6313 (*Pisingallo*).

Híbridos y controles C (2B): Se obtuvieron 3 híbridos a partir de un cruzamiento interracial entre un progenitor femenino de la raza *Amarillo chico* (0B) y un progenitor masculino de la raza *Pisingallo* (2B), y 5 controles mediante un cruzamiento intrarracial en la población VAV 6313 (*Pisingallo*).

Híbridos y controles D (2B): Se obtuvieron 4 híbridos a partir de un cruzamiento interracial entre un progenitor femenino de la raza *Pisingallo* (0B) y un progenitor masculino de la raza *Amarillo chico* (2B), y 4 controles mediante un cruzamiento intrarracial en la población VAV 6351 (*Amarillo chico*).

Híbridos y controles E (3B): Se obtuvieron 6 híbridos a partir de un cruzamiento interracial entre un progenitor femenino de la raza *Amarillo chico* (2B) y un progenitor masculino de la raza *Pisingallo* (2B), y 5 controles mediante un cruzamiento intrarracial y una autofecundación en la población VAV 6313 (*Pisingallo*).

Híbridos y controles F (3B): Se obtuvieron 2 híbridos a partir de un cruzamiento interracial entre un progenitor femenino de la raza *Pisingallo* (1B) y un progenitor masculino de la raza *Amarillo chico* (1B), y 6 controles mediante un cruzamiento intrarracial y una autofecundación en la población VAV 6351 (*Amarillo chico*).

Híbridos y controles con 0B: Se obtuvieron mediante cruzamientos 0B x 0B intra e interraciales. Se analizaron: a) 2 individuos obtenidos a partir de un cruzamiento intrarracial en la raza *Pisingallo*, b) 3 individuos obtenidos a partir

de un cruzamiento intrarracial en la raza *Amarillo chico*, c) 3 obtenidos a partir de un cruzamiento *Amarillo chico* x *Pisingallo*, y d) 3 mediante un cruzamiento recíproco *Pisingallo* x *Amarillo chico*.

Análisis del comportamiento meiótico

Las híbridos obtenidos (F1) y sus controles intrarraciales respectivos fueron cultivados al año siguiente. Los individuos fueron identificados y luego se llevó a cabo la determinación del número de cromosomas B, tal como fue descrito anteriormente. Cada una de las 270 plántulas, individualizadas e identificadas según el número de cromosomas B que portaban, fueron transplantadas al campo experimental. En el período de pre-floración se realizaron fijaciones de la inflorescencia masculina.

Las frecuencias de apareamiento de los B, de bivalentes A abiertos y de micronúcleos fueron transformadas según Christiansen et al (1976). Esta transformación se utiliza cuando los datos están expresados en frecuencias y hay diferencias en los tamaños de las muestras. Las frecuencias transformadas fueron comparadas con ANOVA y correlaciones simples.

$$x_i = (p_i - p_0) (N_i / p_0 (1-p_0))^{1/2}$$

Donde p_0 es la frecuencia media de cromosomas B, p_i representa la frecuencia de cromosomas B en la población i y N_i es el número de individuos portadores de cromosomas B en la población i .

RESULTADOS

TRANSMISIÓN DE LOS CROMOSOMAS B

Tasa de transmisión

Determinación de la dosis

Los cromosomas B del maíz son fácilmente distinguibles de los cromosomas A; en metafases mitóticas en general están más intensamente teñidos, son los más pequeños y son subtelocéntricos (Figura 8, pág. 66).

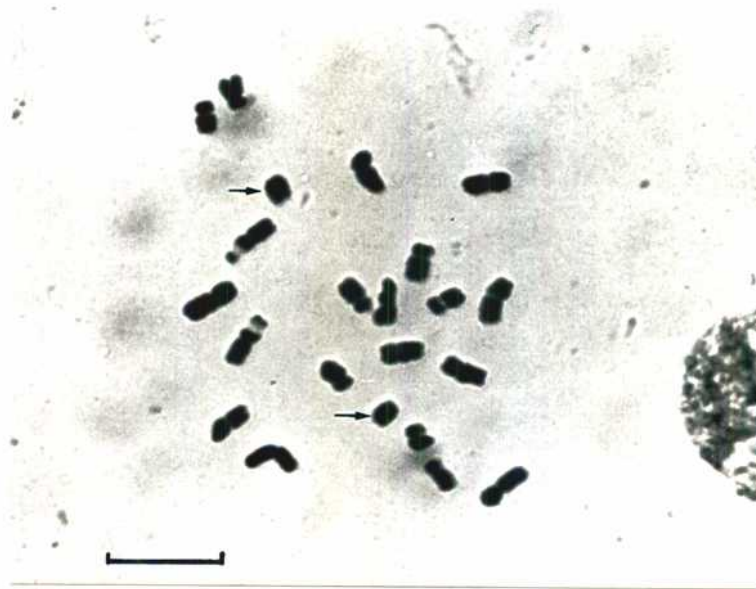


Figura 8. Metafase mitótica con dos cromosomas B. La barra mide 10 μm .

Tasa de transmisión en G_0

El recuento cromosómico en las células madres de las microsporas, en la mayoría de los individuos portadores de cromosomas B involucrados en los

cruzamientos 0Bx1B (Tabla 1, pág. 67), junto a los recuentos cromosómicos en raíces verificaron su estabilidad mitótica en las líneas somática y germinal.

cruzamiento	nro. de individuos con Bs					tasa de transmisión
	0B	1B	2B	4B	total	
1*	27		26		53	0,98
2*	28	1	21	1	51	0,92
3*	28		22		50	0,88
4	16		9		25	0,72
5	16		9		25	0,72
6	17		9		26	0,69
7	16		8		24	0,67
8	17		8		25	0,64
9	18		7		25	0,56
10	18		6		24	0,50
11	19		5		24	0,42
12	20		5		25	0,40
13	20		5		25	0,40
14	20		5		25	0,40
15	41	1	9		51	0,37
16**	37		6		43	0,28
17**	63		10		73	0,27
18	19		2		21	0,19
19	21		2		23	0,17
20	21	2	1		24	0,17
total	482	4	175	1	662	Tt±ES=0,52±0,06

Tabla 1. Número de cromosomas B y tasa de transmisión en G₀. Los asteriscos señalan las espigas seleccionadas para la siguiente generación.

A partir de los datos de los cruzamientos 0B x 1B (Tabla 1, pág. 67) se determinó que la tasa media de transmisión masculina de cromosomas B en G_0 fue $T_t \pm ES. = 0,52 \pm 0,06$, y el rango de variación fue: 0,98-0,17 (Figura 9, pág. 73). La descendencia (G_0) de los 20 cruzamientos 0Bx1B presentó individuos con 0B y 2B, siendo muy escasa la frecuencia de individuos con 1B (0,60%) y 4B (0,15%).

Tasa de transmisión en G_1

La tasa de transmisión media de la progenie G_1 , resultante de los cruzamientos 0Bx2B, seleccionados a partir de individuos de alta transmisión de la generación anterior ($T_t=0,98, 0,92, 0,88$; Tabla 1 -señalados con un asterisco-, pág. 67) fue: $T_{t_3} \pm ES. = 0,65 \pm 0,03$ (Figura 9, pág. 73). La frecuencia de individuos con 2B fue significativamente mayor que la frecuencia mendeliana (0,5) ($\chi^2 = 50,742, p < 0,00001$). Esta progenie G_1 de alta transmisión presentó 0B y 2B, siendo muy baja la frecuencia de individuos con 1B; 3B y 4B (0,5; 0,2 y 1,7%) respectivamente (Tabla 2, pág. 69).

La tasa de transmisión media de la progenie G_1 , resultante de los cruzamientos 0Bx2B, seleccionados a partir de individuos de baja transmisión de la generación anterior ($T_t=0,27, 0,28$; Tabla 1 -señalados con dos asteriscos-, pág. 67) fue: $T_{t_6} \pm ES. = 0,41 \pm 0,01$ (Figura 9, pág. 73). La frecuencia de individuos con 2B fue significativamente inferior a la frecuencia mendeliana (0,5) ($\chi^2 = 10,116, p =$

0,015). Esta progenie G₁ de baja transmisión presentó 0B y 2B, siendo muy baja la frecuencia de individuos con 1B (0,6%) (Tabla 3, pág. 70).

cruzamiento	nro. de individuos con Bs					nro. medio de Bs	tasa de transmisión
	0B	1B	2B	3B	4B	total	
1*	15		80			95	1,68
2	9		15		2	26	1,46
3*	30		56	1	4	91	1,44
4*	16		39			55	1,42
5	8		17			25	1,36
6	10		15			25	1,20
7	10		14			24	1,17
8	10		14			24	1,17
9	10	2	12			24	1,08
10	13		11		1	25	1,04
total	131	2	273	1	7	414	1,30
							Tt±ES=0,65±0,03

Tabla 2. Número de cromosomas B y tasa de transmisión en G₁, obtenidos a partir de cruzamientos 0Bx2B dentro del grupo seleccionado para alta transmisión. Los asteriscos señalan las espigas seleccionadas para la siguiente generación.

Mediante el ANOVA (Kruskal-Wallis) se determinó que la diferencia entre las tasas de transmisión halladas en G₁ en los grupos seleccionados para alta y baja transmisión fueron significativamente diferentes (F= 13,63, p= 0,0002).

cruzamiento	nro. de indiv. con Bs				nro. medio de Bs	tasa de transmisión
	0B	1B	2B	total		
1	20		16	36	0,89	0,44
2	14		11	25	0,88	0,44
3	14		11	25	0,88	0,44
4*	46	1	35	82	0,88	0,44
5	17		13	30	0,87	0,43
6	14		10	24	0,83	0,42
7	15		10	25	0,80	0,40
8*	27		17	44	0,77	0,39
9	16	1	8	25	0,68	0,34
total	183	2	131	316	0,83	Tt±ES=0,41±0,01

Tabla 3. Número de cromosomas B y tasa de transmisión en G₁, obtenidos a partir de cruzamientos 0Bx2B dentro del grupo seleccionado para baja Tt. Los asteriscos señalan las espigas seleccionadas para la siguiente generación.

Tasa de transmisión en G₂

La tasa de transmisión media de la progenie G₂ resultante de los cruzamientos 0Bx2B, seleccionados a partir de individuos que presentaron las mayores tasas de transmisión dentro del grupo de alta de la generación anterior (Tt=0,84, 0,72, 0,71; Tabla 2 -señalado con un asterisco-, pág. 69), fue: Tt_a± ES.=

0,68±0,03. La frecuencia de individuos con 2B fue significativamente superior a la frecuencia mendeliana (0,5) ($\chi^2 = 57.619$, $p < 0,00001$) (Figura 9, pág. 73). Esta progenie G₂ presentó 0B y 2B, siendo muy baja la frecuencia de individuos con 1B y 4B: 0,3% y 1%, respectivamente (Tabla 4, pág. 71).

cruzamiento	nro. de indiv. con Bs					nro. medio de Bs	tasa de transmisión
	0B	1B	2B	4B	total		
1*	23		108		131	1,65	0,82
2	10		18	2	30	1,47	0,73
3	9	1	23		33	1,42	0,71
4	10		19		29	1,31	0,66
5	12		22		34	1,29	0,65
6	13		17	1	31	1,23	0,61
7	10		13		23	1,13	0,57
total	87	1	220	3	311	1,36	Tt±ES=0,68±0,03

Tabla 4. Número de cromosomas B y tasa de transmisión en G₂, obtenidos a partir de cruzamientos 0Bx2B dentro del grupo seleccionado para alta Tt. El asterisco señala a la espiga seleccionada para la siguiente generación.

La tasa de transmisión media de la progenie G₂ resultante de los cruzamientos 0Bx2B, seleccionados a partir de individuos de las menores tasas de transmisión dentro del grupo de baja en la generación anterior (Tt=0,43, 0,39;

Tabla 3 -señalado con un asterisco-, pág. 70), fue: $Tt_b \pm ES = 0,48 \pm 0,01$. La frecuencia de individuos con 2B no fue significativamente inferior a la frecuencia mendeliana (0,5) ($\chi^2 = 0,588$, $p = 0,443$) (Figura 9, pág. 73). Esta progenie G_2 presentó mayormente 0B y 2B, siendo muy baja la frecuencia de individuos con 4B (0,3%) (Tabla 5, pág. 72).

Mediante el ANOVA (Kruskal-Wallis) se determinó que diferencias entre las tasas de transmisión halladas en G_2 en los grupos seleccionados para alta y baja transmisión fueron significativamente diferentes ($F = 10,691$, $p = 0,0011$).

cruzamiento	nro. de indiv. con Bs				nro. medio de Bs	tasa de transmisión
	0B	2B	4B	total		
1	14	14		28	1,00	0,50
2	16	16		32	1,00	0,50
3	14	14		28	1,00	0,50
4	18	18		36	1,00	0,50
5	15	14		29	0,97	0,48
6*	43	39		82	0,95	0,48
7	14	9	1	24	0,92	0,46
8	16	13		29	0,90	0,45
total	150	137	1	288	0,97	$Tt \pm ES = 0,48 \pm 0,01$

Tabla 5. Número de cromosomas B y tasa de transmisión en G_2 , obtenidos a partir de cruzamientos 0Bx2B dentro del grupo seleccionado para baja Tt. El asterisco señala la espiga seleccionada para la siguiente generación.

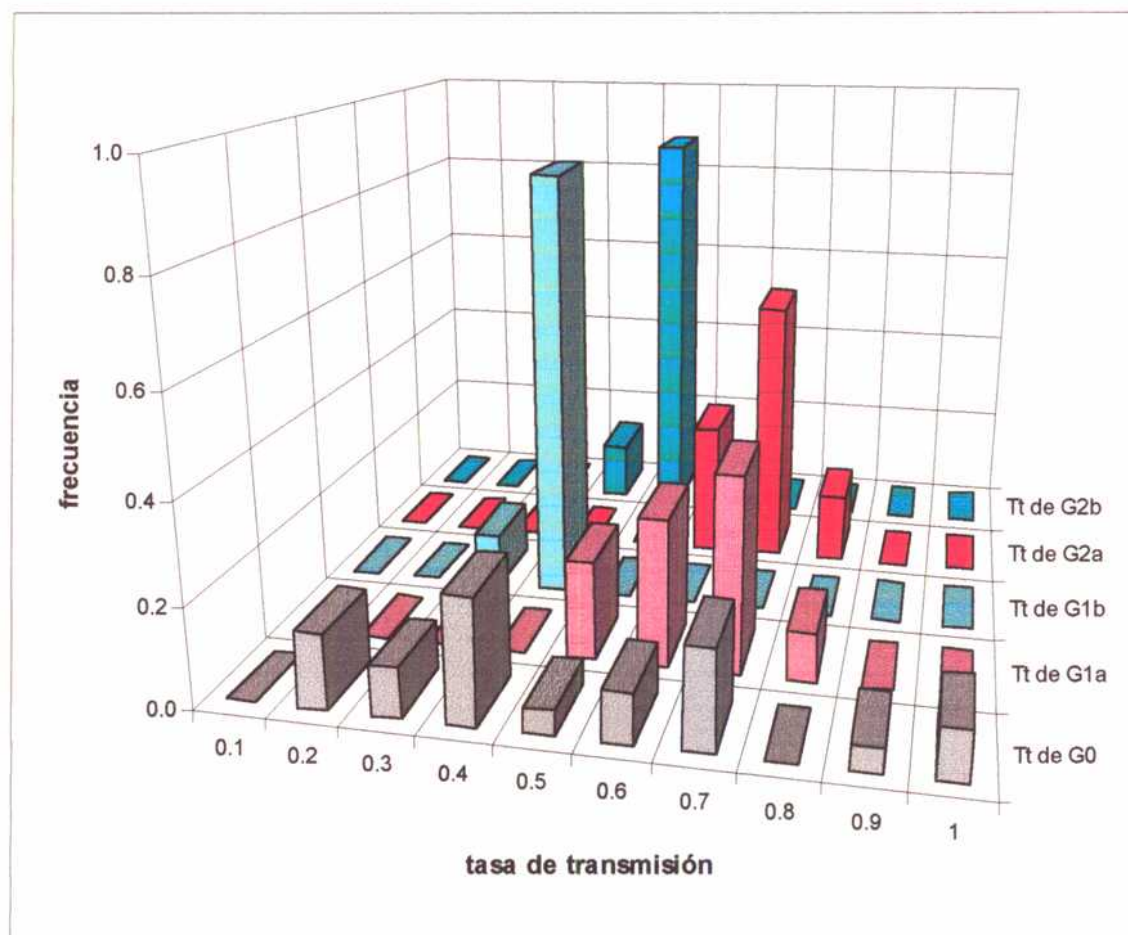


Figura 9. Distribución de la tasa de transmisión masculina de los B por planta en la población parental G_0 y la descendencia (G_1 y G_2) de alta y baja transmisión.

Tasa de transmisión en G_3

Se obtuvieron cuatro clases de progenies en la G_3 resultantes de cruzamientos 0B x 2B. Los cruzamientos fueron realizados entre individuos

pertenecientes al grupo de alta Tt (alta x alta), de baja Tt (baja x baja), y entre los grupos de alta y baja Tt (alta x baja y baja x alta).

Se seleccionaron los individuos de G_2 que presentaron la mayor Tt dentro del grupo de alta ($Tt=0,82$, Tabla 4 -señalado con un asterisco-, pág. 71) y la menor Tt dentro del grupo de baja ($Tt=0,48$, Tabla 5 -señalado con un asterisco-, pág. 72). La tasa de transmisión media de la progenie G_3 resultante de los cruzamientos $0B(\text{alta}) \times 2B(\text{alta})$, fue: $Tt_{aa} \pm ES = 0,71 \pm 0,04$. La frecuencia de individuos con 2B es significativamente superior a la frecuencia mendeliana (0,5) ($\chi^2 = 23.742$, $p < 0,00001$). Esta progenie G_3 presentó 0B y 2B, siendo muy baja la frecuencia de individuos con 4B (0,7%) (Tabla 6, pág. 74).

cruzamiento	nro. de indiv. con Bs				nro. medio de Bs	tasa de transmisión
	0B	2B	4B	total		
1	6	20	1	27	1,63	0,82
2	9	27		36	1,50	0,75
3	7	19		26	1,46	0,73
4	8	18		26	1,39	0,69
5	12	15		27	1,11	0,56
total	42	99	1	142	1,42	$Tt \pm ES = 0,71 \pm 0,04$

Tabla 6. Número de Bs y tasa de transmisión en G_3 , obtenidos a partir de cruzamientos $0B(\text{alta}) \times 2B(\text{alta})$.

La tasa de transmisión media de la progenie G_3 resultante de los cruzamientos $0B(\text{baja}) \times 2B(\text{baja})$, fue: $T_{bb} \pm ES = 0,48 \pm 0,04$. La frecuencia de individuos con 2B no es significativamente inferior a la frecuencia mendeliana (0,5) ($\chi^2 = 0,286$, $p = 0,593$). Esta progenie G_3 presentó únicamente 0B y 2B (Tabla 7, pág. 75).

cruzamiento	nro. de indiv. con Bs			nro. medio de Bs	tasa de transmisión
	0B	2B	total		
1	10	14	24	1,17	0,58
2	14	16	30	0,11	0,53
3	10	10	20	1,00	0,50
4	15	12	27	0,89	0,44
5	17	8	25	0,64	0,32
total	66	60	126	0,95	$T_t \pm ES = 0,48 \pm 0,04$

Tabla 7. Número de cromosomas B y tasa de transmisión en G_3 , obtenidos a partir de cruzamientos $0B(\text{baja}) \times 2B(\text{baja})$.

La tasa de transmisión media de la progenie G_3 resultante de los cruzamientos $0B(\text{alta}) \times 2B(\text{baja})$, fue: $T_{ab} \pm ES = 0,69 \pm 0,05$. La frecuencia de individuos con 2B es significativamente superior a la frecuencia mendeliana (0,5) ($\chi^2 = 21,893$, $p < 0,00001$). Esta progenie G_3 presentó mayormente 0B y 2B, siendo muy baja la frecuencia de individuos con 4B (1,25%) (Tabla 8, pág. 76).

cruzamiento	nro. de indiv. con Bs				nro. medio de Bs	tasa de transmisión
	0B	2B	4B	total		
1	6	20	2	28	1,71	0,86
2	5	22		27	1,63	0,82
3	8	19		27	1,41	0,70
4	9	19		28	1,36	0,68
5	11	15		26	1,15	0,58
6	11	14		25	1,12	0,56
total	50	109	2	161	1,38	$Tt \pm ES = 0,69 \pm 0,05$

Tabla 8. Número de cromosomas B y tasa de transmisión en G_3 , obtenidos a partir de cruzamientos 0B(**alta**)x2B(**baja**).

cruzamiento	nro. de indiv. con Bs				nro. medio de Bs	tasa de transmisión
	0B	2B	4B	total		
1	11	14		25	1,12	0,56
2	14	16		30	1,07	0,53
3	13	11	1	25	1,04	0,52
4	16	16		32	1,00	0,50
5	14	13		27	0,96	0,48
6	18	8		26	0,61	0,31
total	86	78	1	165	0,97	$Tt \pm ES = 0,48 \pm 0,04$

Tabla 9. Número de cromosomas B y tasa de transmisión en G_3 , obtenidos a partir de cruzamientos 0B(**baja**)x2B(**alta**).

	progenitor masculino de alta transmisión	progenitor masculino de baja transmisión
progenitor femenino de alta transmisión	0,71 ± 0,04	0,69 ± 0,05
progenitor femenino de baja transmisión	0,48 ± 0,04	0,48 ± 0,04

Tabla 10. Tasa de transmisión en G₃, a partir de cruzamientos 0B(**alta**)x2B(**alta**), 0B(**alta**)x2B(**baja**), 0B(**baja**)x2B(**alta**), y 0B(**baja**)x2B(**baja**).

La tasa de transmisión media de la progenie G₃ resultante de los cruzamientos 0B(**baja**)x2B(**alta**), fue: $T_{t_{ba}} \pm ES. = 0,48 \pm 0,04$ (Tabla 9, pág. 76). La frecuencia de individuos con 2B no es significativamente inferior a la frecuencia mendeliana (0,5) ($\chi^2 = 0,390$, $p < 0,532$). Esta progenie G₃ presentó mayormente 0B y 2B, siendo muy baja la frecuencia de individuos con 4B (0,6%) (Tabla 9, pág. 76).

Al comparar las tasas medias de estos cuatro cruzamientos, teniendo en cuenta la Tt del progenitor femenino (alta o baja), y por otro la Tt del masculino (alta o baja), se determinó que: 1) las Tts medias difieren significativamente entre grupos de alta y baja Tt cuando se comparan los progenitores femeninos ($F=25.595$, $p < 0,0001$); 2) no hubo diferencias significativas entre los grupos de alta y baja Tt cuando se comparan los progenitores masculinos ($F=0,040$, $p=0,844$) (Figura 10, pág. 78; Tabla 10, pág. 77).

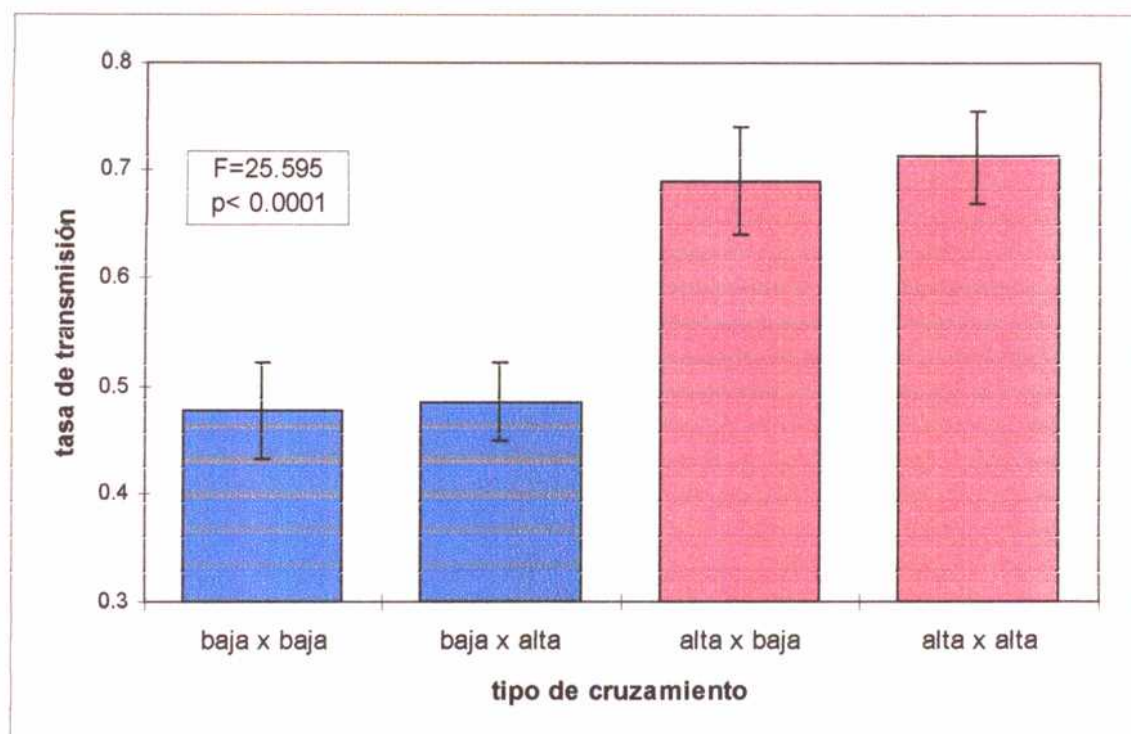


Figura 10. Tasa de transmisión en G_3 para cada tipo de cruzamiento. En azul se encuentra representados los progenitores femeninos de baja Tt, y en rojo los de alta Tt. Las barras representan el error estándar.

Comportamiento meiótico de los cromosomas B en individuos de alta y baja tasa de transmisión

Comportamiento meiótico de individuos con 1B

Se analizó el comportamiento meiótico de individuos con 1B de alta y baja tasa de transmisión pertenecientes a la población original (VAV 6313) (Tabla 11, pág. 79). Se fijó parte de las inflorescencias inmaduras en estos individuos para corroborar la estabilidad de los B a lo largo del desarrollo, tal

como fue descrito en métodos (pág. 53). Luego de la determinación de la Tt en los 20 cruzamientos 0B x 1B en G0, se analizó el comportamiento meiótico de 5 progenitores masculinos involucrados en 5 de estos cruzamientos, cuyas inflorescencias se encontraban previamente fijadas.

Tt de plantas de VAV 6313 (1B)	anafase I				telofase I		tel. II - tétrada	
	Bs rezagados		División ecuacional		micronúcleos		micronúcleos TII	
	%	nro. cel.	%	nro. cel.	%	nro. cel.	%	nro. cel.
0,17 (baja)	0	108	2	108	3	133	0	152
0,17 (baja)	0	50	0	50	7	48	2	270
0,40 (baja)	1	322	2	322	8	339	0	155
0,66 (alta)	2	158	3	158	3	330	0	98
0,98 (alta)	1	150	1	150	4	130	1	284

Tabla 11. Comportamiento meiótico de 1B en plantas de la población original (VAV 6313) con diferentes tasas de transmisión.

El cromosoma B puede perderse en meiosis cuando queda rezagado en anafase I, cuando se divide ecuacionalmente durante anafase I, o cuando luego de migrar a un polo no se integra en telofase I (Figuras 20 y 21, págs. 112 y 113). La presencia del B rezagado y dividiendo sus cromátidas en anafase I proporciona una medida directa de su pérdida meiótica, asociada con una mayor proporción de micronúcleos en telofase I - díadas y telofase II - tétradas. La frecuencia de células que presentan al B como rezagado y dividiéndose ecuacionalmente varió entre 0-2% y 0-3% en todos los individuos analizados.

La frecuencia de micronúcleos en diadas también fue escasa, su valor varía entre 3-8%, con una media de 5%; y en tétradas entre 0-2% con una media de 0,6% (Tabla 11, pág. 79). La pérdida meiótica de los B registrada fue escasa, y no existen diferencias significativas entre los grupos que presentaron alta y baja tasa de transmisión. En general, el univalente B migró precozmente a un polo, integrándose a uno de los núcleos resultantes en telofase I (Figuras 18 y 19, págs. 110 y 111).

Comportamiento meiótico de individuos con 2B

Los resultados fueron obtenidos del análisis meiótico de 2B portados por las plantas seleccionadas para alta y baja tasa de transmisión en G_0 (Tt_{sel} : 0,29 y 0,92) y G_1 (Tt_{sel} : 0,41 y 0,76) (Tabla 12, pág.81).

La presencia de 2 univalentes B en diacinesis y metafase I varió entre 1 y 17%, aproximadamente (Figuras 22 D y 23 B y C, págs. 114 y 115). La frecuencia de 2 univalentes B en los individuos seleccionados para baja tasa de transmisión (10,7%) fue mayor que la frecuencia de 2 univalentes B que presentaron los individuos los seleccionados para alta tasa de transmisión (3,3%) (Tabla 12, pág. 81); sin embargo, el ANOVA indicó que las diferencias entre las frecuencias de formación de 2 univalentes B en plantas seleccionadas para alta y baja Tt no es significativa ($F = 4.817$, $p = 0,595$).

Tt de indiv. seleccionados (2B)	Tt	diac.- MI		telofase I-díada		telofase II- tétradas	
		frecuencia de 2 I _B		Bs rezagados o micronúcleos		Bs rezagados	
		%	nro.	%	nro.	%	nro.
0,27 (baja)	G ₀	16,1	267	1,0	231	1,2	85
0,27 (baja)	G ₀	2,7	263	9,6	124	4,6	109
0,44 (baja)	G ₁	6,4	125	0,0	83	0,0	38
0,28 (baja)	G ₀	11,8	136	-----	-----	2,4	41
0,28 (baja)	G ₀	16,6	235	3,3	245	2,6	76
0,84 (alta)	G ₁	2,1	192	5,7	56	1,4	69
0,84 (alta)	G ₁	2,3	88	2,1	48	1,2	82
0,98 (alta)	G ₀	8,4	333	4,0	99	1,6	64
0,92 (alta)	G ₀	2,9	173	1,7	57	2,4	254
0,92 (alta)	G ₀	1,0	386	1,7	121	2,6	190

Tabla 12. Comportamiento meiótico de 2B en plantas de G₀ y G₁ seleccionadas para alta y baja tasa de transmisión.

El análisis de correlación entre la frecuencia (corregida) para la formación de 2 univalentes B respecto de la tasa de transmisión seleccionada, tampoco es significativo ($r = -0,617$, $p = 0,0574$) (Figura 22 D, pág. 114).

La frecuencia de micronúcleos durante los estadios de telofase I y díada fue escasa, con un valor medio de 3.2%, y varía entre 0 a 9.6%. La presencia de micronúcleos en telofase I no se encuentra relacionada con la tasa de

transmisión de las plantas seleccionadas, ni con la frecuencia de formación de univalentes Bs en estas plantas ($r=-0,144$, $p=0,711$, y $r=-0,404$, $p=0,280$, respectivamente). La presencia de micronúcleos en telofase II - tétrada fue también escasa, con una frecuencia media de 2%, y una variación de 0 a 4.6%. La frecuencia de micronúcleos en este estadio tampoco se encuentra asociada con la frecuencia de formación de 2 univalentes B, ni con la tasa de transmisión según la cual fueron seleccionadas las plantas ($r=-0,202$, $p=0,575$, y $r=-0,292$, $p=0,46$, respectivamente) (Tabla 12, pág. 81).

En general, los 2B formaron bivalentes, presentando un comportamiento meiótico regular. Los bivalentes B segregaron normalmente en anafase I, y en muy baja frecuencia pueden presentar disyunción precoz (Figuras 22 A, B, C y 23 A, págs. 114 y 115).

COMPORTAMIENTO MEIÓTICO DE LOS CROMOSOMAS B EN LAS RAZAS *PISINGALLO*, *AMARILLO CHICO*, Y SUS HÍBRIDOS

Con la finalidad de determinar la estabilidad meiótica de los cromosomas B en individuos pertenecientes a la población VAV 6313) de la raza *Pisingallo*, y a la población VAV 6351 de la raza *Amarillo chico*, se investigó el comportamiento meiótico de los B en diferentes dosis dentro de ambas poblaciones y sus híbridos interraciales.

Análisis meiótico de individuos con 1B

El estudio del comportamiento meiótico de individuos con 1B se llevó a cabo mediante: a) el análisis de 3 individuos con 1B provenientes de un cruzamiento interracial (híbridos A), y de otros 3 individuos provenientes del cruzamiento interracial recíproco (híbridos B); b) el análisis de 5 y 7 individuos controles con 1B provenientes de un cruzamiento dentro de la población VAV 6313 (raza *Pisingallo*) y de la población VAV 6351 (raza *Amarillo chico*), respectivamente.

Obtención de híbridos interraciales con 1B

Híbridos A: Se analizaron 3 individuos con 1B obtenidos a partir de un cruzamiento interracial entre un progenitor femenino de la raza *Amarillo chico* portador de 2B, y un progenitor masculino de la raza *Pisingallo* con 2B (2B_{am}).

$\times 2B_{\text{pisin.}}$). En los híbridos estudiados el cromosoma B se transmitió por vía materna.

		gametos del progenitor masculino (<i>Pisingallo</i>)	
		0B	2B
gametos del prog. fem. (<i>Am.chico</i>)	1B	1B (<i>Am.</i>)	3B (1 <i>Am.</i> + 2 <i>Pisin.</i>)

Los 7 controles con 1B permitieron analizar el comportamiento meiótico del cromosoma B en individuos de la raza *Amarillo chico*. Se obtuvieron mediante un cruzamiento entre un progenitor femenino con 2B y un progenitor masculino con 1B, y mediante la autofecundación de un individuo con 1B.

Híbridos B: Se analizaron 3 individuos con 1B obtenidos a partir de un cruzamiento entre un progenitor femenino de la raza *Pisingallo* portador de 1B y un progenitor masculino de la raza *Amarillo chico* con 1B ($1B_{\text{pisin.}} \times 1B_{\text{am.}}$). En los híbridos estudiados el cromosoma B se transmitió por vía materna.

Los 5 controles con 1B permitieron analizar el comportamiento meiótico del cromosoma B en individuos de la raza *Pisingallo*. Se obtuvieron mediante un

cruzamiento entre un progenitor femenino con 2B y un progenitor masculino con 2B, y mediante una autofecundación de un individuo con 2B.

		gametos del progenitor masculino (<i>Am. chico</i>)	
		0B	2B
gametos del prog. fem. (<i>Pisingallo</i>)	0B	0B	2B (<i>Am.</i>)
	1B	1B (<i>Pisin.</i>)	3B (1 <i>Pisin.</i> + 2 <i>Am.</i>)

Comportamiento meiótico

En el análisis del comportamiento meiótico de individuos con 1B se tuvo en cuenta: 1) la frecuencia de univalentes rezagados en anafase I (se analizaron entre 54 y 124 células); 2) la frecuencia de univalentes B separando sus cromátidas en anafase I (se analizaron entre 54 y 124 células); 3) la frecuencia de micronúcleos en telofase I - díada (se analizaron entre 73 y 476 células); 4) la frecuencia de micronúcleos en telofase II - tétrada, posiblemente resultantes de la no integración del B en telofase I (se analizaron entre 66 y 222 células).

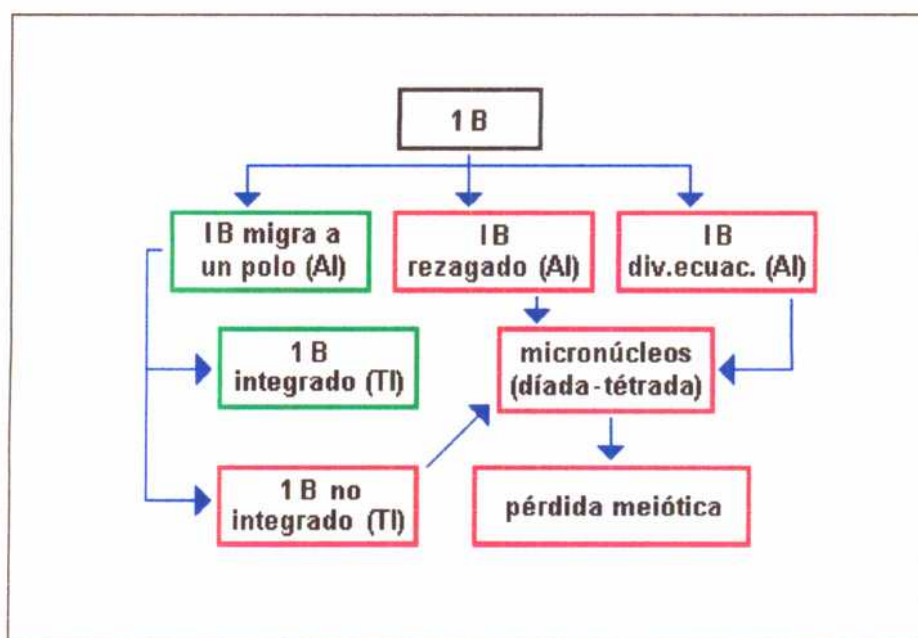


Figura 11. Comportamiento meiótico de 1B.

Híbridos A y sus controles (Raza *Amarillo chico*): El comportamiento meiótico de un cromosoma B en los controles obtenidos por autofecundación o por cruzamiento intrarracial en la raza *Amarillo chico* resultó semejante; por lo tanto, los valores de todos los controles fueron considerados en forma conjunta. En estos controles, la frecuencia con la que el univalente B permaneció rezagado o se dividió ecuacionalmente en anafase I varió de 0,03 a 0,19. La frecuencia de micronúcleos en telofase I - díada varió de 0,11 a 0,38. Por otro lado, la frecuencia de micronúcleos en telofase II - tétrada resultó pequeña, variando de 0 a 0,11.

En los 3 híbridos A estudiados, el univalente B permaneció rezagado o se dividió ecuacionalmente en anafase I con una menor frecuencia que en los

controles: de 0 a 0,05. La frecuencia de micronúcleos en telofase I - díada, resultantes de la no integración de los univalentes B o de los univalentes B rezagados en anafase I fue menor que la de los controles, variando de 0,06 a 0,10. En telofase II - tétrada también se registró una baja frecuencia de micronúcleos: 0 a 0,03 (Figuras 11, 20 y 21, págs. 86, 112 y 113; Tabla 13, pág. 87).

estadios	*indiv.	AM. CHICO (controles)		HÍBRIDOS A		PISINGALLO (controles)		HÍBRIDOS B	
		frec.	media ± ES.	frec.	media ± ES.	frec.	media ± ES.	frec.	media ± ES.
telofase I - díada	1	0,113		0,103		0,000		0,049	
	2	0,151	0,220	0,070	0,078	0,019	0,039	0,221	0,272
	3	---	±	0,062	±	0,019	±	0,545	±
	4	0,387	0,052		0,012	0,065	0,017		0,146
	5	0,169				0,091			
	6	0,122							
	7	0,380							
telofase II- tétrada	1	0,094		0,000		0,011		0,085	
	2	0,015	0,059	0,026	0,015	0,018	0,012	0,127	0,085
	3	0,079	±	0,020	±	0,000	±	0,045	±
	4	0,000	0,018		0,008	0,012	0,004		0,024
	5	0,094				0,021			
	6	0,114							
	7	0,015							

Tabla 13. Comportamiento meiótico de individuos con 1B en los híbridos A, B y sus respectivos controles. * Los números que se repiten en la primera columna corresponden a un mismo individuo.

Híbridos B y sus controles (Raza Pisingallo): El comportamiento meiótico de un cromosoma B en los controles obtenidos por autofecundación o por cruzamiento intrarracial en la raza *Pisingallo* resultó semejante; por lo tanto, los

valores de todos los controles fueron considerados en forma conjunta. La pérdida del univalente B durante la meiosis I en los cinco controles analizados fue escasa. En estos controles, el univalente B permaneció rezagado o se dividió ecuacionalmente con frecuencias de 0 a 0,08. La frecuencia de micronúcleos en telofase I - díada varió de 0 a 0,09, mientras que la frecuencia de micronúcleos en telofase II - tétrada también resultó pequeña, variando de 0 a 0,02. (Figuras 11, 20 y 21, págs. 86, 112 y 113; Tabla 13, pág. 87).

En los 3 híbridos *B* estudiados, el univalente B permaneció rezagado o se dividió ecuacionalmente en anafase I con una frecuencia mayor que la registrada para los controles: de 0,02 a 0,19. La frecuencia de micronúcleos en telofase I - díada resultantes de la no integración de los univalentes B o de los univalentes B rezagados en anafase I también resultó mayor, variando de 0,05 a 0,55. En telofase II - tétrada también se registró una mayor frecuencia de micronúcleos: 0,05 a 0,13 (Figuras 11, 20 y 21, págs. 86, 112 y 113; Tabla 13, pág. 87).

Análisis meiótico de individuos con 2B

El estudio del comportamiento meiótico de individuos con 2B se llevó a cabo mediante: a) el análisis de 3 y 4 individuos con 2B provenientes de dos cruzamientos interraciales: híbridos *C* y *D*, respectivamente; b) el análisis de 5 individuos controles de *C* con 2B, provenientes de un cruzamiento dentro de la

población VAV 6313 (raza *Pisingallo*); c) 4 individuos controles de *D* con 2B, provenientes de un cruzamiento dentro de la población VAV 6351 (*Amarillo chico*).

Obtención de híbridos interraciales con 2B

Híbridos C: Se analizaron 3 individuos con 2B obtenidos a partir de un cruzamiento interracial entre un progenitor femenino de la raza *Amarillo chico* con 0B y un progenitor masculino de la raza *Pisingallo* con 2B ($0B_{am.} \times 2B_{pisin.}$). En los híbridos estudiados los dos Bs son transmitidos por vía paterna (como consecuencia de la no-disyunción en la segunda mitosis del polen).

		gametos del progenitor masculino (<i>Pisingallo</i>)	
		0B	2B
gametos del prog. fem. (<i>Am.chico</i>)	0B	0B	2B (<i>Pisin.</i>)

Los 5 controles con 2B permitieron analizar el comportamiento meiótico de estos Bs de la raza *Pisingallo* en individuos de la misma raza. Se obtuvieron mediante un cruzamiento entre un progenitor femenino con 0B y el mismo progenitor masculino con 2B empleado en el cruzamiento interracial.

Híbrido D: Se analizaron 4 individuos con 2B obtenidos a partir de un cruzamiento interracial entre un progenitor femenino de la raza *Pisingallo* con 0B y un progenitor masculino de la raza *Amarillo chico* con 2B ($0B_{\text{pisin.}} \times 2B_{\text{am.}}$). En los híbridos estudiados los dos Bs son transmitidos por vía paterna (como consecuencia de la no-disyunción en la segunda mitosis del polen).

		gametos del progenitor masculino (<i>Am. chico</i>)	
		0B	2B
gametos del prog. fem. (<i>Pisingallo</i>)	0B	0B	2B (<i>Am.</i>)

Los 4 controles con 2B permitieron analizar el comportamiento meiótico de estos B en individuos de la raza *Amarillo chico*. Se obtuvieron mediante un cruzamiento entre un progenitor femenino con 0B y el mismo progenitor masculino con 2B empleado en el cruzamiento interracial.

Comportamiento meiótico

En el análisis del comportamiento meiótico de individuos con 2Bs se tuvo en cuenta: 1) la frecuencia de univalentes B en diacinesis (se analizaron entre 55 y 131 células); 2) la frecuencia de bivalentes A abiertos en diacinesis (se analizaron entre 42 y 99 células); 3) la frecuencia de micronúcleos en telofase I

- díada (se analizaron entre 56 y 144 células); 4) la frecuencia de micronúcleos en telofase II - tétrada, posiblemente resultantes de la no integración del univalente B en telofase I (se analizaron entre 91 y 300 células).

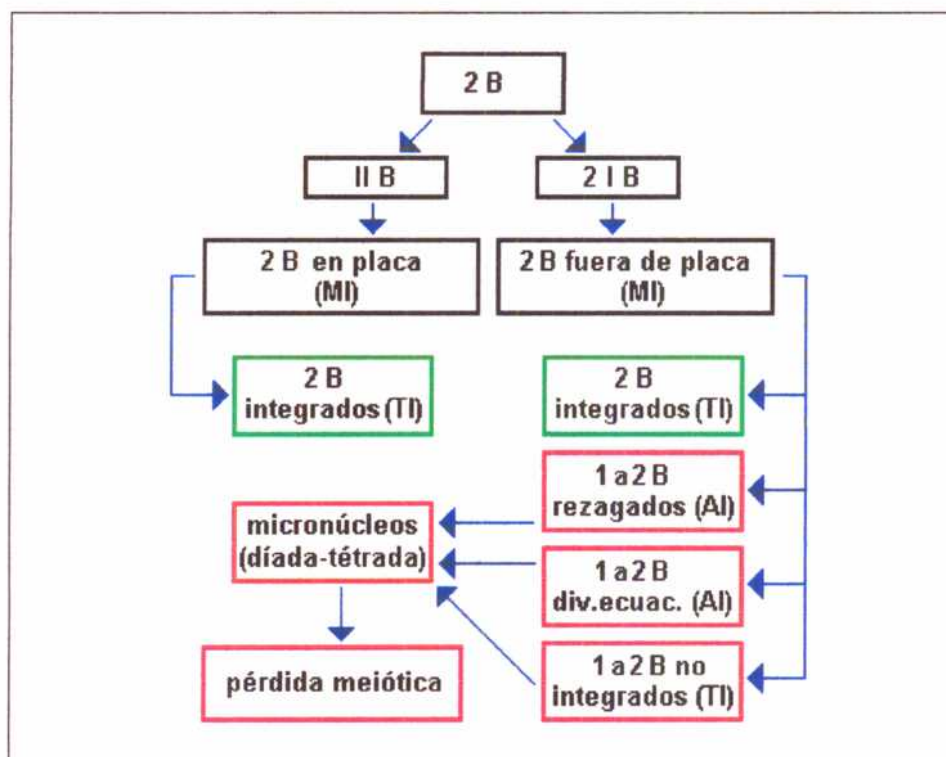


Figura 12. Comportamiento meiótico de 2B.

El comportamiento meiótico de los 2 cromosomas B fue regular en todos los híbridos y controles. Por lo general, forman un bivalente en profase I, que segrega correctamente en anafase I. Cuando se comportan como 2 univalentes, estos pueden: 1) migrar a uno de los polos, integrándose a uno de los núcleos resultantes en telofase I, 2) permanecer rezagados, 3) dividirse

ecuacionalmente en anafase I, 4) no integrarse a los núcleos resultantes en telofase I, dando como resultado la formación de micronúcleos en las díadas (Figuras 12, 22 y 23, págs. 91, 114 y 115).

estadio	*indiv.	PISINGALLO (controles)		HÍBRIDOS C		AM. CHICO (controles)		HÍBRIDOS D	
		frec.	media ± ES.	frec.	media ± ES.	frec.	media ± ES.	frec.	media ± ES.
diacinesis	1	0,030		0,032		0,212		0,066	
	2	0,111	0,080	0,172	0,104	0,048	0,074	0,012	0,078
	3	0,139	±	0,107	±	0,000	±	0,016	±
	4	0,109	0,025		0,040	0,038	0,047	0,218	0,048
	5	0,013							
II_A abiertos	1	0,186		0,463		0,566		0,147	
	2	0,241	0,354	0,384	0,325	0,396	0,343	0,182	0,213
	3	0,467	±	0,127	±	0,214	±	0,229	±
	4	0,396	0,060		0,102	0,196	0,087	0,295	0,032
	5	0,479							
telofase I - díada	1	0,024		0,021		0,094		0,041	
	2	0,000	0,017	0,026	0,024	0,040	0,047	0,000	0,040
	3	0,019	±	0,026	±	0,009	±	0,036	±
	4	0,039	0,007		0,002	0,045	0,018	0,083	0,017
	5	0,000							
telofase II - tétrada	1	0,015		0,016		0,074		0,000	
	2	0,000	0,003	0,006	0,020	---	0,026	0,000	0,006
	3	0,000	±	0,039	±	0,005	±	0,005	±
	4	0,000	0,003		0,010	0,000	0,024	0,020	0,005
	5	0,000							

Tabla 14. Comportamiento meiótico de individuos con 2B en los híbridos C y D, y sus respectivos controles. * Los números que se repiten en la primera columna corresponden a un mismo individuo.

En general los 2B formaron 1 bivalente, tanto en los híbridos como en sus respectivos controles; la frecuencia de 2 univalentes observada en

diacinesis superó el 0,20 en sólo dos individuos. La presencia de uno y dos micronúcleos en telofase I - díada fue escasa, con frecuencias que variaron entre 0 y 0,09, para todos los individuos estudiados. La presencia de micronúcleos en telofase II - tétrada fue también escasa, variando entre 0 y 0,07 (Tabla 14, pág. 92).

Al mismo tiempo se evaluó la frecuencia de bivalentes abiertos en los A, la que será analizada más adelante.

Análisis meiótico de individuos con 3B

El estudio del comportamiento meiótico individuos con 3B se llevó a cabo mediante: a) el análisis de 6 y 2 individuos con 3B provenientes de dos cruzamientos interracial: híbridos *E* y *F*, respectivamente; b) el análisis de 5 individuos controles de *E* con 3B, provenientes de un cruzamiento y una autofecundación dentro de la población VAV 6313 (raza *Pisingallo*); c) 6 individuos controles de *F* con 3B, provenientes de un cruzamiento y una autofecundación en la población VAV 6351 (raza *Amarillo chico*).

Obtención de híbridos interracial con 3B

Híbrido *E*: Se analizaron 6 individuos con 3B obtenidos a partir de un cruzamiento interracial entre un progenitor femenino de la raza *Amarillo chico*

con 2B, y un progenitor masculino de la raza *Pisingallo* con 2B ($2B_{am.} \times 2B_{pisin.}$). En los híbridos estudiados los tres B fueron transmitidos por vía materna, y los dos restantes, por vía paterna (como consecuencia en la no-disyunción de la segunda mitosis del polen).

		gametos del progenitor masculino (<i>Pisingallo</i>)	
		0B	2B
gametos del prog. fem. (<i>Am.chico</i>)	1B	1B (<i>Am.</i>)	3B (1 <i>Am.</i> + 2 <i>Pisin.</i>)

Los 5 controles con 3B permitieron analizar el comportamiento meiótico en individuos de la raza *Pisingallo*. Se obtuvieron mediante un cruzamiento entre un progenitor femenino con 2B y el mismo progenitor masculino con 2B empleado en el cruzamiento interracial, y mediante una autofecundación de la misma planta con 2B empleada como progenitor masculino.

Híbrido F: Se analizaron 2 individuos con 3B obtenidos a partir de un cruzamiento interracial entre un progenitor femenino de la raza *Pisingallo* con 1B y un progenitor masculino de la raza *Amarillo chico* con 1B ($1B_{pisin.} \times 1B_{am.}$). En los híbridos estudiados, los tres B son transmitidos por vía materna y los dos

restantes por vía paterna (como consecuencia de la no-disyunción en la segunda mitosis del polen).

		gametos del progenitor masculino (<i>Am. chico</i>)	
		0B	2B
gametos del prog. fem. (<i>Pisingallo</i>)	0B	0B	2B (Am.)
	1B	1B (<i>Pisin.</i>)	3B (1 <i>Pisin.</i> + 2 <i>Am.</i>)

Los 6 controles con 3B permitieron analizar el comportamiento meiótico de estos B en los individuos de la raza *Amarillo chico*. Se obtuvieron mediante un cruzamiento entre un progenitor femenino con 2B y el mismo progenitor masculino con 1B empleado en el cruzamiento interracial, y mediante una autofecundación de la misma planta con 1B empleada como progenitor masculino.

Comportamiento meiótico

En el análisis del comportamiento meiótico de individuos con 3B se tuvo en cuenta: 1) la frecuencia y tipo de trivalentes B en diacinesis (se analizaron entre 44 y 118 células); 2) la frecuencia de 1 bivalente B + 1 univalente B en

diacinesis (se analizaron entre 44 y 118 células); 3) la frecuencia de 3 univalentes B en diacinesis (se analizaron entre 44 y 118 células); 4) la frecuencia de bivalentes A abiertos en diacinesis (se analizaron entre 35 y 101 células); 5) la frecuencia de micronúcleos en telofase I - díada (se analizaron entre 53 y 420 células). 6) La frecuencia de micronúcleos en telofase II - tétrada, posiblemente resultantes de la no integración del univalente B en telofase I (se analizaron entre 59 y 300 células).

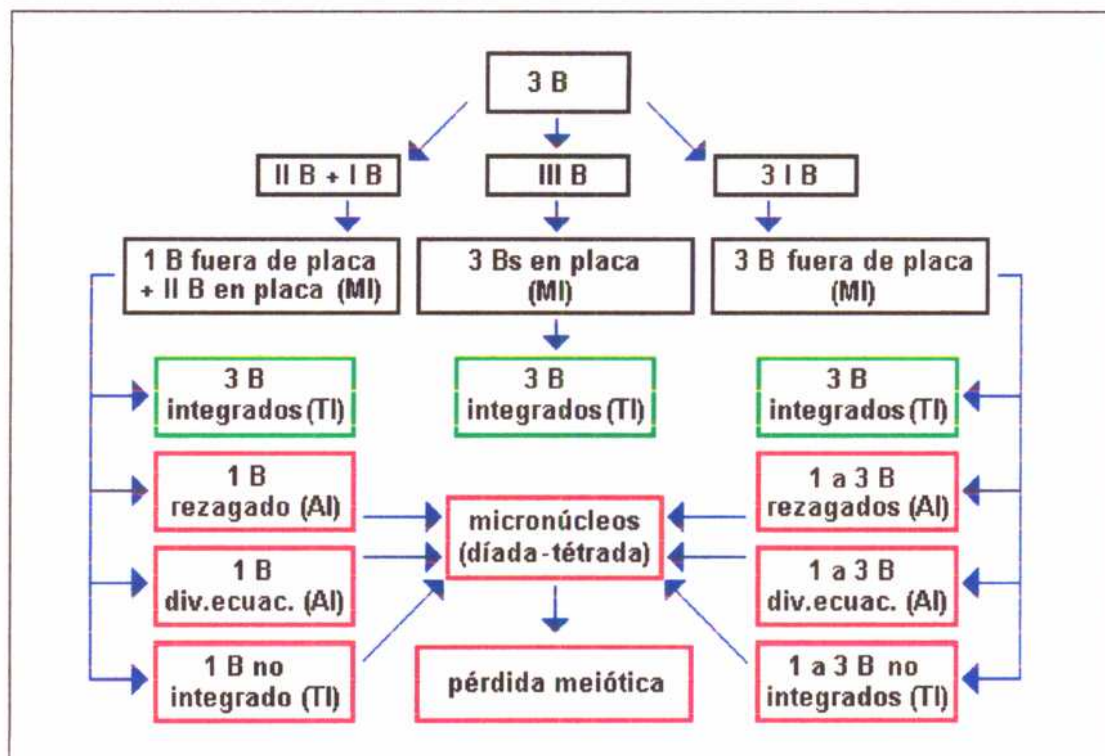


Figura 13. Comportamiento meiótico de 3B.

Híbridos E y sus controles (Raza Pisingallo): El comportamiento meiótico de los tres cromosomas B en los controles obtenidos por autofecundación o por cruzamiento intrarracial dentro de la raza *Pisingallo* resultó semejante; por lo tanto, los valores de todos los controles fueron considerados en forma conjunta. En los 5 controles intrarraciales, los 3B se presentaron en diacinesis como: un trivalente, un bivalente más un univalente, y tres univalentes, con frecuencias medias: 0,46, 0,51, y 0,03, respectivamente (Tabla 15, pág. 99). Los tipos de trivalentes posibles fueron: *lineal*, *en sartén* y *en Y*, con frecuencias medias (\pm ES.) de $0,59 \pm 0,04$, $0,26 \pm 0,05$, y $0,15 \pm 0,04$, respectivamente, siendo el tipo *lineal* el más frecuente en todos los individuos (Figura 24, pág. 116).

En los 6 híbridos E, el comportamiento en diacinesis es semejante al descrito en el control (*Pisingallo*). Las frecuencias medias de trivalentes, bivalente más univalente, y tres univalentes B fueron 0,44, 0,55, y 0,01, respectivamente. Los tipos de trivalentes posibles fueron: *lineal*, *en sartén* y *en Y*, con frecuencias medias (\pm ES.) de $0,70 \pm 0,06$, $0,16 \pm 0,02$, y $0,14 \pm 0,03$, respectivamente, siendo el tipo *lineal* el más frecuente en todos los individuos (Figuras 13 y 24, págs. 96 y 116; Tabla 15, pág. 99).

En los individuos híbridos y en los controles los cromosomas B se comportan por lo general en forma regular durante el resto de la meiosis. El trivalente en metafase I se ubica en la placa y en anafase I segrega 2B a uno

de los polos y 1B a otro. Cuando los tres B forman un bivalente más un univalente, el bivalente B se ubica en la placa y el univalente permanece fuera de la placa en metafase I. En anafase I el bivalente B segrega un B a cada polo, mientras que el univalente por lo general migra a uno de ellos, integrándose a uno de los núcleos en formación en la telofase I (Figuras 13, 25 y 26 A, C, págs. 96, 117 y 118).

En los 5 controles, las frecuencias observadas de univalentes Bs rezagados y dividiéndose ecuacionalmente en anafase I fueron bajas: 0,00 y, de 0 a 0,07, respectivamente. La frecuencia de micronúcleos observada en telofase I - díada fue también baja variando de 0,03 a 0,11 (Figura 26 D, pág. 118). Durante la meiosis II la frecuencia de micronúcleos observada en telofase II - tétrada fue baja variando de 0,01 a 0,07 (Tabla 15, pág. 99).

En los 6 híbridos *E*, las frecuencias observadas de univalentes Bs rezagados y dividiéndose ecuacionalmente en anafase I fueron bajas: de 0,00 a 0,05 y, de 0,01 a 0,05, respectivamente. La frecuencia de micronúcleos observada en telofase I - díada fue baja variando de 0,02 a 0,07 (Figura 26 D, pág. 118). Durante la meiosis II, la frecuencia de micronúcleos observada en telofase II - tétrada fue baja variando de 0,02 a 0,04 (Tabla 15, pág. 99).

Al mismo tiempo se evaluó la frecuencia de bivalentes abiertos en los A, la que será analizada más adelante.

estadio	*indiv.	PISINGALLO (controles)		HÍBRIDOS E		AM. CHICO (controles)		HÍBRIDOS F	
		frec.	media ± ES.	frec.	media ± ES.	frec.	media ± ES.	frec.	media ± ES.
<u>diacinesis</u>	1	0,024		0,009		0,090		0,028	
	2	0,000	0,026	0,000	0,008	0,049	0,042	0,025	0,026
	3	0,061	±	0,024	±	0,029	±		±
	4	0,043	0,012	0,000	0,004	0,062	0,013		0,001
	5	0,000		0,000		0,000			
	6			0,012		0,023			
frec. de 3I _B	1	0,451		0,570		0,742		0,653	
	2	0,500	0,511	0,543	0,554	0,777	0,657	0,678	0,665
	3	0,480	±	0,451	±	0,563	±		±
	4	0,543	0,023	0,636	0,028	0,654	0,053		0,012
	5	0,581		0,509		0,447			
	6			0,617		0,761			
frec. de II _B +I _B	1	0,524		0,421		0,169		0,319	
	2	0,500	0,463	0,457	0,438	0,173	0,300	0,297	0,308
	3	0,459	±	0,524	±	0,408	±		±
	4	0,414	0,022	0,364	0,027	0,284	0,062		0,011
	5	0,419		0,492		0,553			
	6			0,370		0,216			
frec. de III _B	1	0,404		0,465		0,455		0,338	
	2	0,386	0,456	0,800	0,705	0,562	0,369	0,238	0,288
	3	0,500	±	1,162	±	0,211	±		±
	4	0,460	0,028	0,314	0,121	0,433	0,078		0,050
	5	0,532		0,679		0,063			
	6			0,809		0,493			
II _A abiertos	1	0,024		0,009		0,090		0,028	
	2	0,000	0,026	0,000	0,008	0,049	0,042	0,025	0,026
	3	0,061	±	0,024	±	0,029	±		±
	4	0,043	0,012	0,000	0,004	0,062	0,013		0,001
	5	0,000		0,000		0,000			
	6			0,012		0,023			
<u>telofase I - díada</u>	1	0,029	0,057	0,034	0,048	0,066	0,164	0,183	0,125
	2	0,075	±	0,058	±	0,276	±		±
	3	0,015	0,022	0,072	0,007	0,138	0,034		0,058
	4	0,112		0,043		0,151			
	5			0,057		0,101			
	6								
micro- núcleos	1	0,074		0,030		0,017		0,041	
	2	0,005	0,027	0,041	0,027	0,099	0,045	0,019	0,030
	3	0,013	±	0,043	±	0,042	±		±
	4	0,008	0,013	0,012	0,005	0,038	0,012		0,011
	5	0,036		0,021		0,056			
	6			0,016		0,017			
<u>telofase II- tétrada</u>	1	0,074		0,030		0,017		0,041	
	2	0,005	0,027	0,041	0,027	0,099	0,045	0,019	0,030
	3	0,013	±	0,043	±	0,042	±		±
	4	0,008	0,013	0,012	0,005	0,038	0,012		0,011
	5	0,036		0,021		0,056			
	6			0,016		0,017			
micro- núcleos	1	0,074		0,030		0,017		0,041	
	2	0,005	0,027	0,041	0,027	0,099	0,045	0,019	0,030
	3	0,013	±	0,043	±	0,042	±		±
	4	0,008	0,013	0,012	0,005	0,038	0,012		0,011
	5	0,036		0,021		0,056			
	6			0,016		0,017			

Tabla 15. Comportamiento meiótico de individuos con 3B en los híbridos E y F, y sus respectivos controles. * Los números que se repiten en la primera columna corresponden a un mismo individuo.

Híbridos F y sus controles (Raza *Amarillo chico*): El comportamiento meiótico de los tres cromosomas B en los controles obtenidos por autofecundación o por cruzamiento intrarracial en de la raza *Amarillo chico* fue semejante; por lo tanto, los valores de todos los controles fueron considerados en forma conjunta. En los 6 controles intrarraciales, los 3B se comportaron en diacinesis como: un trivalente, un bivalente más un univalente, y tres univalentes, con frecuencias medias: 0,30, 0,66, y 0,04, respectivamente (Tabla 15, pág. 99). Los tipos de trivalentes posibles fueron: *lineal*, *en sartén* y *en Y*, con frecuencias medias (\pm ES.) de $0,65 \pm 0,05$, $0,21 \pm 0,04$, y $0,15 \pm 0,04$, respectivamente, siendo el tipo *lineal* el más frecuente en todos los individuos (Figura 24, pág. 116).

En los 2 híbridos F estudiados, las frecuencias medias de un trivalente, un bivalente + un univalente, y tres univalentes B resultan 0,31, 0,66, y 0,03, respectivamente. Los tipos de trivalentes posibles fueron: *lineal*, *en sartén* y *en Y*, con frecuencias medias (\pm ES.) de $0,80 \pm 0,003$, $0,13 \pm 0,02$, y $0,07 \pm 0,01$, respectivamente, siendo el tipo *lineal* el más frecuente en todos los individuos (Figuras 13 y 24, págs. 96 y 116; Tabla 15, pág. 99).

Tal como fue descripto anteriormente para los híbridos E y sus controles, el trivalente en metafase I se ubica por lo general, en la placa, segregando 2B a uno de los polos y 1B a otro en anafase I. Cuando los tres Bs forman un

bivalente y un univalente, el bivalente B se ubica en la placa y el univalente permanece fuera de placa en metafase I. En anafase I, el bivalente B segrega un B a cada polo, mientras que por lo general el univalente migra a uno de ellos, integrándose a uno de los núcleos en formación o permaneciendo como un micronúcleo en telofase I (Figuras 25 y 26, págs. 117 y 118).

En los 6 controles, las frecuencias observadas de univalentes B rezagados y dividiéndose ecuacionalmente en anafase I resultaron bajas: de 0,00 a 0,05 y, de 0,00 a 0,03, respectivamente. La frecuencia de micronúcleos observada en telofase I - díada fue también baja variando de 0,07 a 0,28 (Figura 26 D, pág. 118). Durante la meiosis II, la frecuencia de micronúcleos observada en telofase II - tétrada varió de 0,02 a 0,10 (Tabla 15, pág. 99).

En los 2 híbridos *F*, las frecuencias observadas de univalentes B rezagados y dividiéndose ecuacionalmente en anafase I también fueron bajas: 0,02 y 0,00, respectivamente. La frecuencia de micronúcleos observada en telofase I - díada varió de 0,18 a 0,07 (Figura 26 D, pág. 118). Durante la meiosis II, la pérdida de los B fue baja; la frecuencia de micronúcleos observada en telofase II - tétrada varió entre 0,02 y 0,04 (Tabla 15, pág. 99).

Al mismo tiempo se evaluó la frecuencia de bivalentes abiertos en los A, la que será analizada más adelante.

Análisis meiótico de individuos con 0B

Con la finalidad de obtener controles con 0B, se realizaron cruzamientos 0B x 0B intra e interracial. El análisis se realizó en: a) 2 individuos con 0B obtenidos a partir de un cruzamiento intrarracial en la raza *Pisingallo*, b) 3 individuos con 0B obtenidos a partir de un cruzamiento intrarracial en la raza *Amarillo chico*, c) 3 individuos con 0B obtenidos a partir de un cruzamiento interracial entre un progenitor femenino de la raza *Amarillo chico* y un progenitor masculino de *Pisingallo*, y d) 3 individuos con 0B obtenidos mediante un cruzamiento interracial recíproco.

estadios	*indiv.	AM. CHICO (controles)		HÍBRIDOS <i>AmX Pising</i>		PISINGALLO (controles)		HÍBRIDOS <i>Pising X Am</i>	
		frec.	media ± ES.	frec.	media ± ES.	frec.	media ± ES.	frec.	media ± ES.
telofase I - diada	1	0,017	0,016	0,000	0,003	0,008	0,004	0,000	0,003
micro- núcleos	2	0,010	±	0,000	±	0,000	±	0,000	±
	3	0,021	0,003	0,010	0,003		0,004	0,009	0,003
telofase II- tétrada	1	0,007	0,008	0,016	0,005	0,000	0,000	0,000	0,000
micro- núcleos	2	0,016	±	0,000	±	0,000	±	0,000	±
	3	0,000	0,004	0,000	0,005		0,000	0,000	0,000

Tabla 16. Comportamiento meiótico de individuos con 0B en los híbridos y los respectivos controles intrarraciales. * Los números que se repiten en la primera columna corresponden a un mismo individuo.

En el análisis del comportamiento meiótico de individuos con 0B se tuvieron en cuenta: 1) la frecuencia de micronúcleos en telofase I - diáda (se analizaron entre 60 y 138 células); 2) la frecuencia de micronúcleos en telofase II - tétrada (se analizaron entre 56 y 184 células). Los valores obtenidos son analizados más adelante (Tabla 16, pág. 102).

Frecuencia de quiasmas

Frecuencia de quiasmas de los cromosomas B y A

A los efectos de evaluar la frecuencia de quiasmas de los cromosomas B, se considera la frecuencia de trivalentes (1-frec.de al menos 1 univalente B). La frecuencia de trivalentes B en los individuos con 3B puede considerarse como una medida indicativa de su frecuencia de quiasmas. La frecuencia media mínima de quiasmas se calcula como: frecuencia de trivalentes X 2 quiasmas + frecuencia de bivalentes X 1 quiasma. Esta frecuencia corregida de quiasmas de los 3B se correlacionó significativamente con la frecuencia corregida de trivalentes B ($r = 0,98775$; $p < 0,00001$) (Figura 14, pág. 104). La corrección aplicada a los valores de frecuencia correspondió a la de Christiansen *et.al* (1976).

Entre los individuos de la raza *Amarillo chico* (controles de los híbridos *E*) la frecuencia corregida de trivalentes B se encuentra correlacionada negativamente con la frecuencia media corregida de bivalentes A abiertos ($r = -$

0,9479, $p=0,0019$), de tal manera que, en los individuos analizados, la frecuencia de quiasmas de los cromosomas B disminuye a medida que aumenta la media de bivalentes A abiertos (a medida que disminuyen los quiasmas de los cromosomas A) (Figura 15, pág. 105).

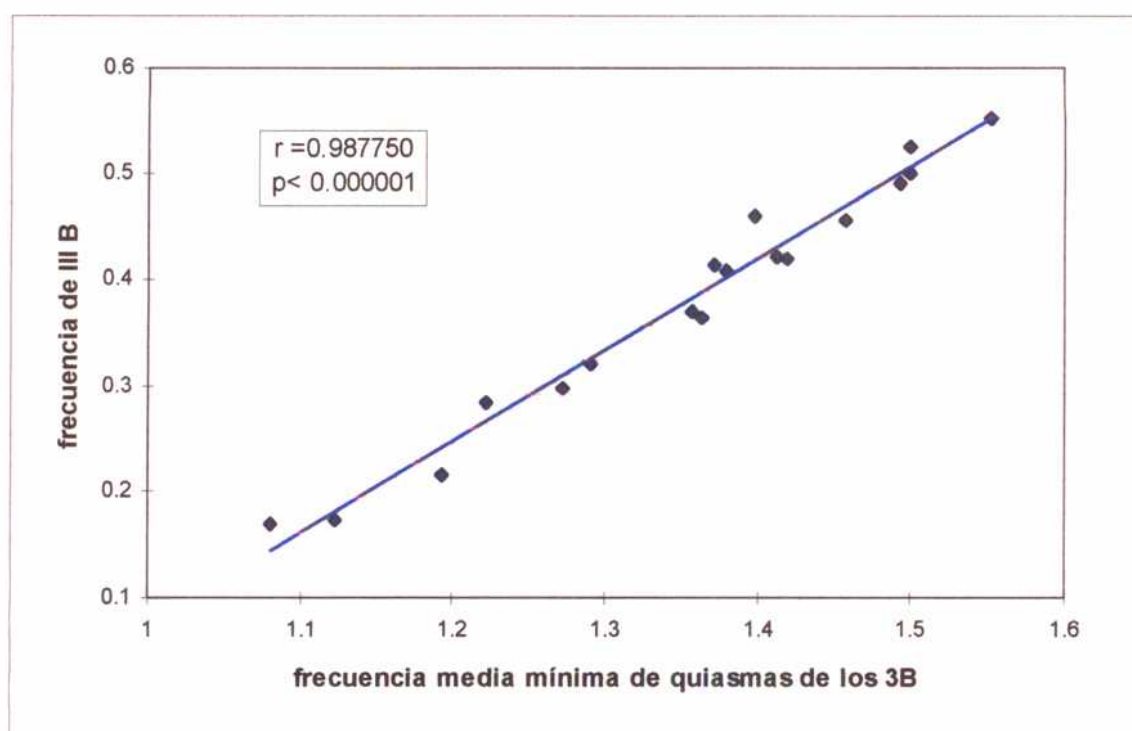


Figura 14. Correlación entre la frecuencia mínima de quiasmas de los B y la frecuencia de III B en *Pisingallo*, *Am. chico* e híbridos E y F.

En los individuos de la raza *Pisingallo* (controles de los híbridos E) no se encontró una correlación significativa entre la frecuencia de trivalentes B y la frecuencia de quiasmas de los A ($r = -0,5824$, $p = 0,1227$). No obstante, fue posible distinguir una tendencia en la disminución de la frecuencia de trivalentes B a medida que aumenta la frecuencia de bivalentes A abiertos (17, pág. 108).

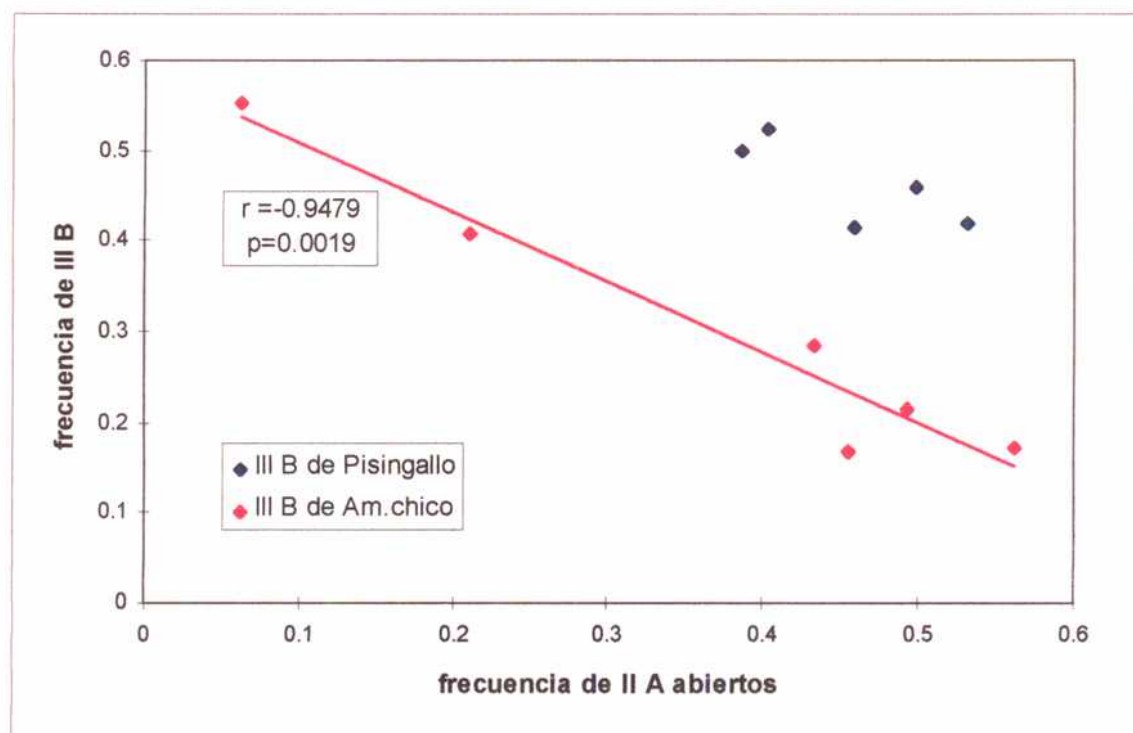


Figura 15. Relaciones entre la frecuencia de trivalentes B de las razas Amarillo chico y Pisingallo y la frecuencia media de bivalentes A abiertos.

Frecuencia de apareamiento de los cromosomas B, origen racial y dosis

A los efectos de analizar la frecuencia de univalentes B en individuos con 2 y 3B, se consideró la frecuencia de apareamiento como: la frecuencia de bivalentes B en individuos con 2B y la frecuencia de trivalentes en individuos con 3B (es decir, $\text{frec. apareamiento} = 1 - \text{frec. de al menos 1 univalente B}$). Se analizó la frecuencia de apareamiento entre los cromosomas B en los diferentes híbridos y controles con respecto al origen racial de los B y su dosis (2B y 3B) (Figuras 22 y 24, págs. 114 y 116).

De esta manera, se analizó la frecuencia de apareamiento (corregida) de los B provenientes de la raza *Pisingallo* (controles e híbridos C -con 2B-, y sólo los controles E -con 3B-) y la frecuencia de apareamiento de los B de la raza *Amarillo chico* (controles e híbridos D -2B-, y sólo los controles F -3B-). En la Tabla 17 (pág. 106) se muestran las frecuencias medias de apareamiento para 2B y 3B provenientes de ambas razas. La frecuencia de apareamiento de 2 y 3B provenientes de *Pisingallo* resultó significativamente mayor que la observada en *Amarillo chico* ($F=6,319$, $p=0,0194$) (Figura 16, pág. 107; Tabla 17, pág. 106). La interacción entre dosis y origen racial de los B resultó significativa ($F=5,367$, $p=0,0298$), indicando que los B de la raza *Amarillo chico* poseen una frecuencia de apareamiento menor para la dosis 3B que para 2B. (Figuras 16, 22 y 24, págs 107, 114 y 116; Tabla 17, pág. 106).

dosis	Bs de <i>Pisingallo</i> (nro.de indiv.)	Bs de <i>Am.chico</i> (nro.de indiv.)	media
2B	0,911 (8)	0,924 (8)	0,917 (16)
3B	0,463 (5)	0,300 (6)	0,374 (11)
media (2 y 3B)	0,739 (13)	0,657 (14)	

Tabla 17. Frecuencias medias de apareamiento de los B respecto de sus dosis y su origen racial.

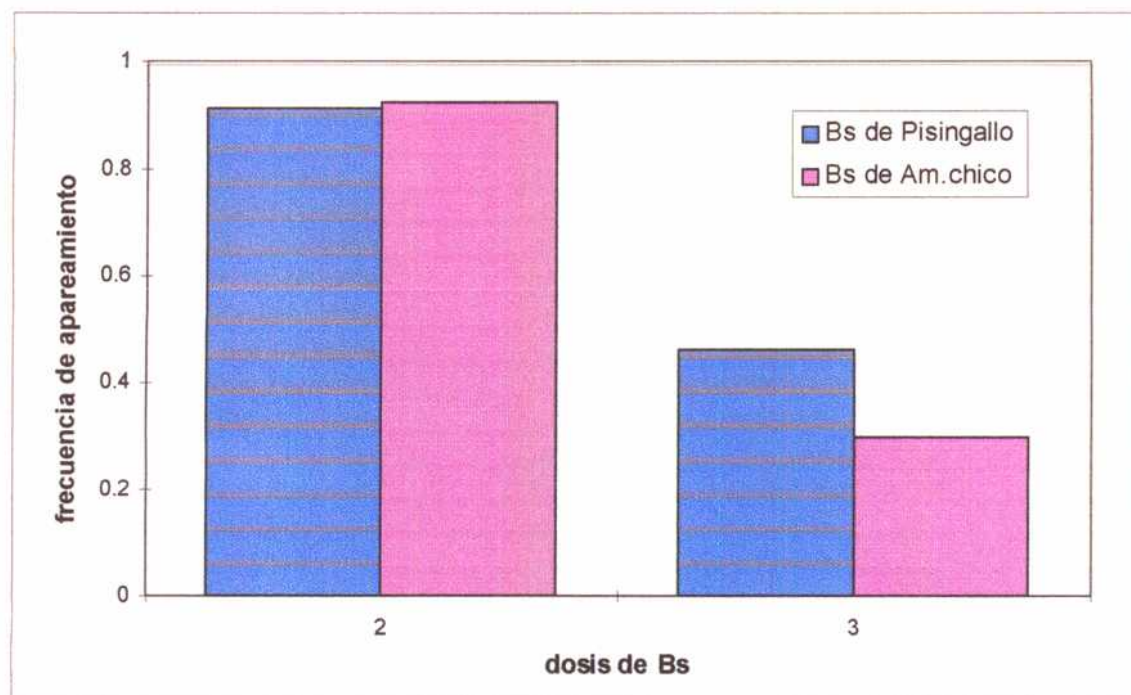


Figura 16. Frecuencia de apareamiento de los B respecto de su dosis y su origen racial.

Pérdida meiótica de los cromosomas B

Relación entre la pérdida meiótica y la raza de los portadores

Se llevó a cabo el análisis de la frecuencia (corregida) de micronúcleos en telofase I -díada respecto de la dosis de Bs y el origen racial de los individuos, mediante un ANOVA. La frecuencia media de micronúcleos resultó significativamente mayor en los individuos de la raza *Amarillo chico* (0,133) que en los de la raza *Pisingallo* (0,031) ($F=3,9029$, $p=0,0266$). La frecuencia media de micronúcleos, considerando todos los híbridos (A, B, C, D, E y F), resultó intermedia (0,067) respecto de las frecuencias medias de ambas razas, aunque

no difirió significativamente de ninguna de ellas (Figuras 17 y 21 A, págs. 108 y 113; Tabla 18, pág. 108).

dosis	raza <i>Pisingallo</i> (nro.de indiv.)	Híbridos (nro.de indiv.)	raza <i>Am. chico</i> (nro.de indiv.)	media
0B	0,004 (2)	0,006 (6)	0,016 (3)	0,007 (11)
1B	0,037 (5)	0,175 (6)	0,220 (6)	0,151 (17)
2B	0,017 (5)	0,040 (7)	0,047 (4)	0,031 (16)
3B	0,057 (4)	0,066 (8)	0,163 (6)	0,097 (18)
media	0,031 (16)	0,067 (27)	0,133 (19)	

Tabla 18. Frecuencia de micronúcleos en TI-díada respecto de las razas *Am. chico*, *Pisingallo* e híbridos con distinta dosis de cromosomas B.

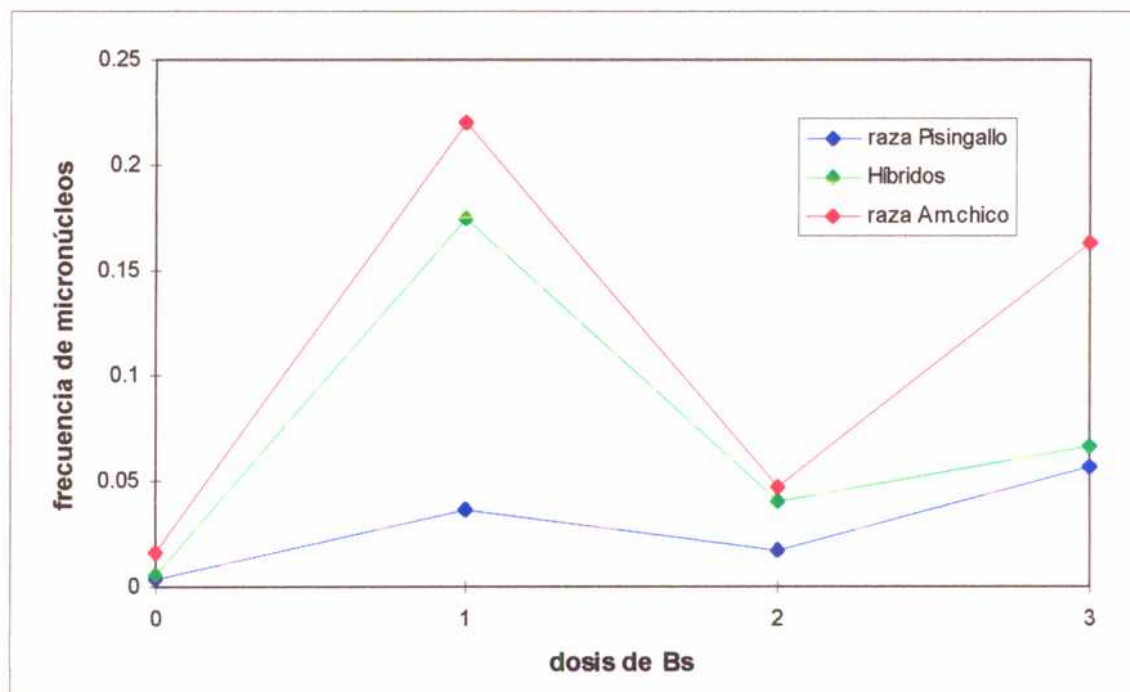


Figura 17. Frecuencia de micronúcleos en TI-díada respecto de las razas *Pisingallo*, *Amarillo chico*, híbridos interraciales y la dosis de cromosomas B.

Relación entre la pérdida meiótica de los cromosomas B y su dosis

Se determinó la frecuencia de micronúcleos respecto de la dosis de cromosomas B en individuos de la raza *Amarillo chico* (controles de *Am. chico* con 0B**, controles de los híbridos *B* -con 1B-, controles de los híbridos *D* -con 2B-, controles de los híbridos *F* -con 3B-). La frecuencia de micronúcleos de los individuos con diferentes dosis de Bs resultó significativamente diferente ($F=3,5699$, $p=0,0396$) (Figuras 21 A, pág. 113). La frecuencia de micronúcleos en los individuos con 1B y 3B presentaron una mayor tendencia a la formación de micronúcleos en telofase I - díada, que los individuos con 0B y 2B (Figura 17, pág. 108; Tablas 16 y 18, págs. 102 y 108).

** Los resultados de estos controles se encuentran en la Tabla 16 (pág. 102).

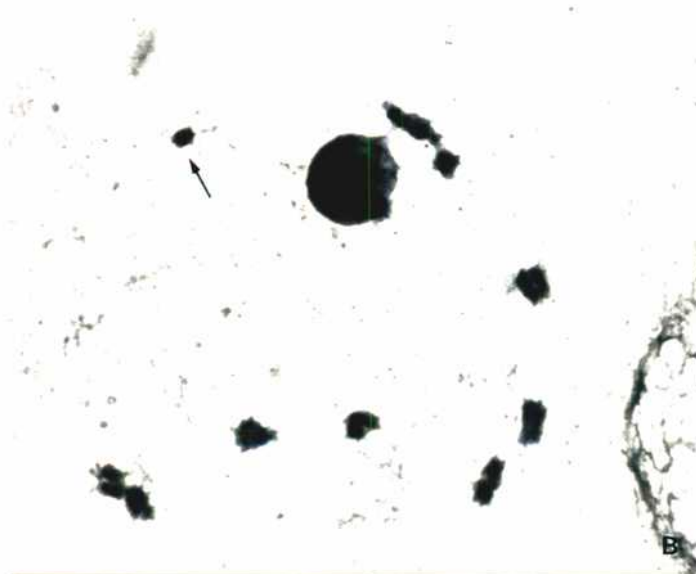
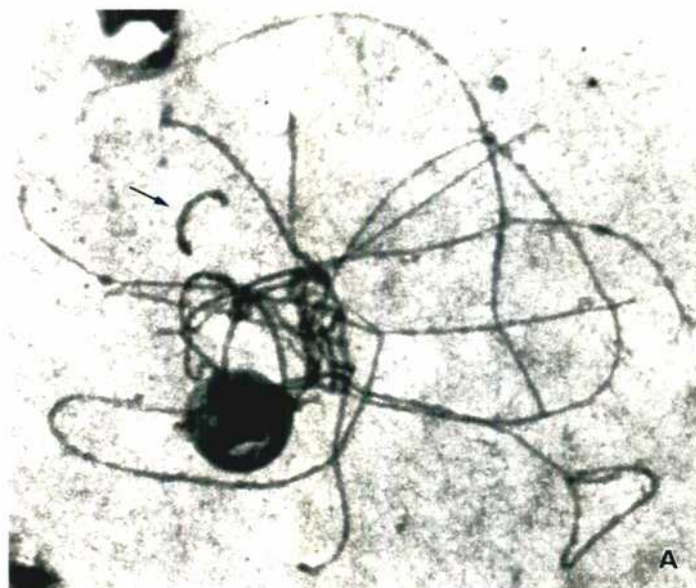


Figura 18. A) Paquitene, univalente B (*Pising.*). B) Diacinesis, univalente B (*Pising.*). La barra mide 10 μ m.

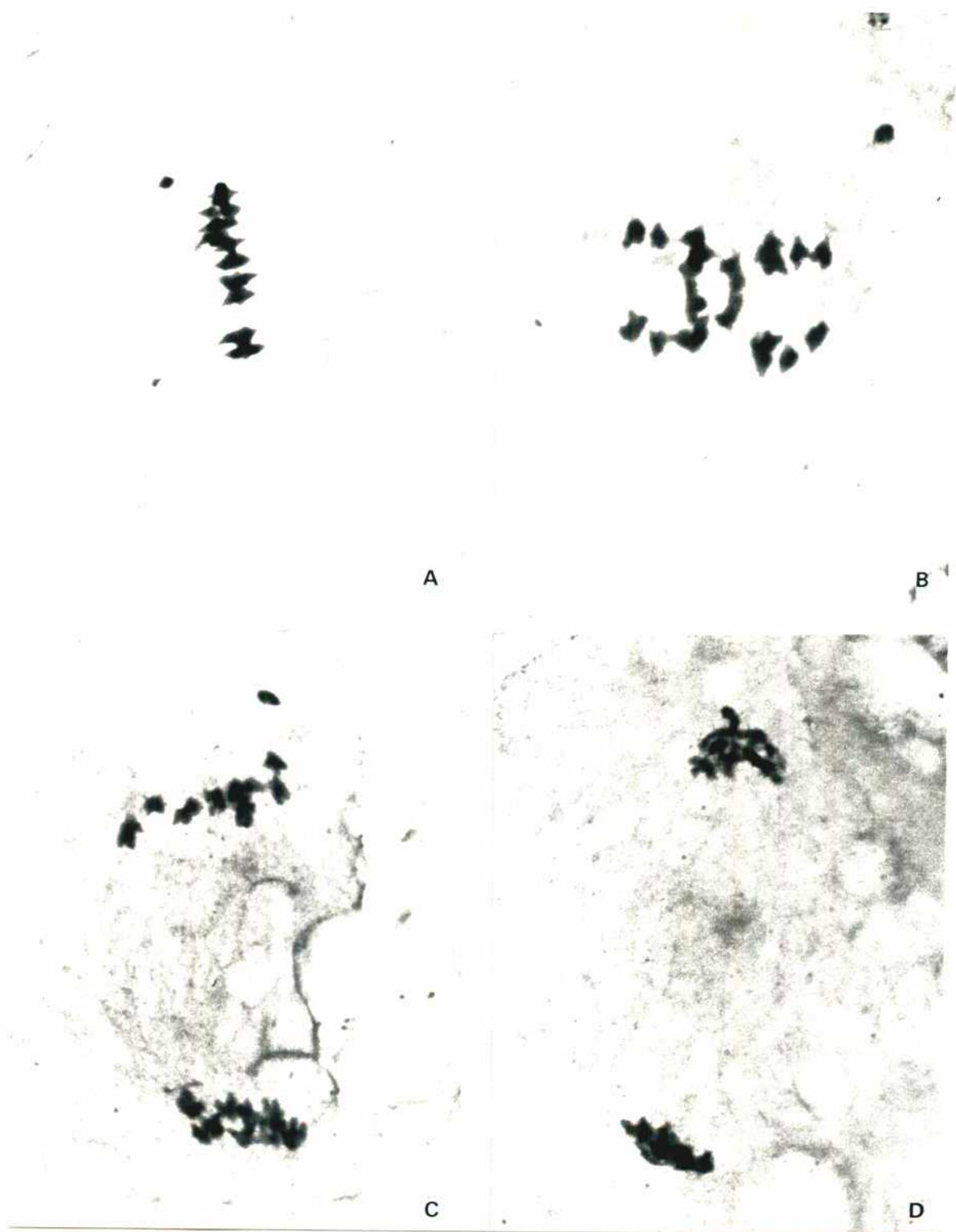


Figura 19. A) Metafase I, univalente B fuera de placa (*Pising.*). B) Anafase I temprana, univalente B migrando a un polo (*Pising.*). C) Anafase I, univalente B en un polo (*Pising.*). D) Telofase I, cromosoma B integrándose (*Pising.*). La barra mide 10 μ m.

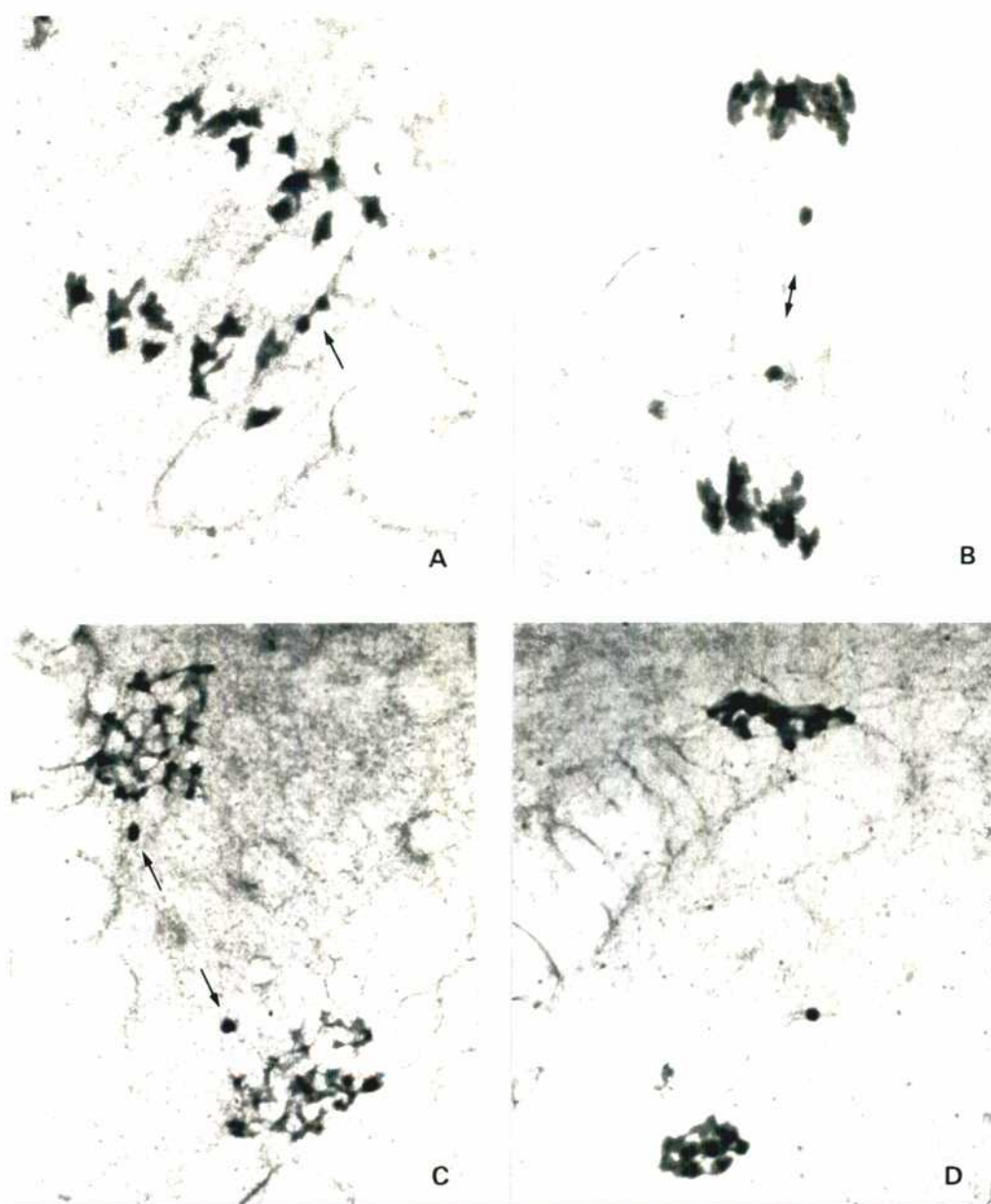


Figura 20. A) Anafase I, univalente B rezagado y dividiéndose (*Am. chico*). B) Anafase I, univalente B dividido ecuacionalmente (*Am. chico*). C) Telofase I, univalente B dividido ecuacionalmente (*Am. chico*). D) Telofase I, univalente B rezagado (*Am. chico*). La barra mide 10 μ m.

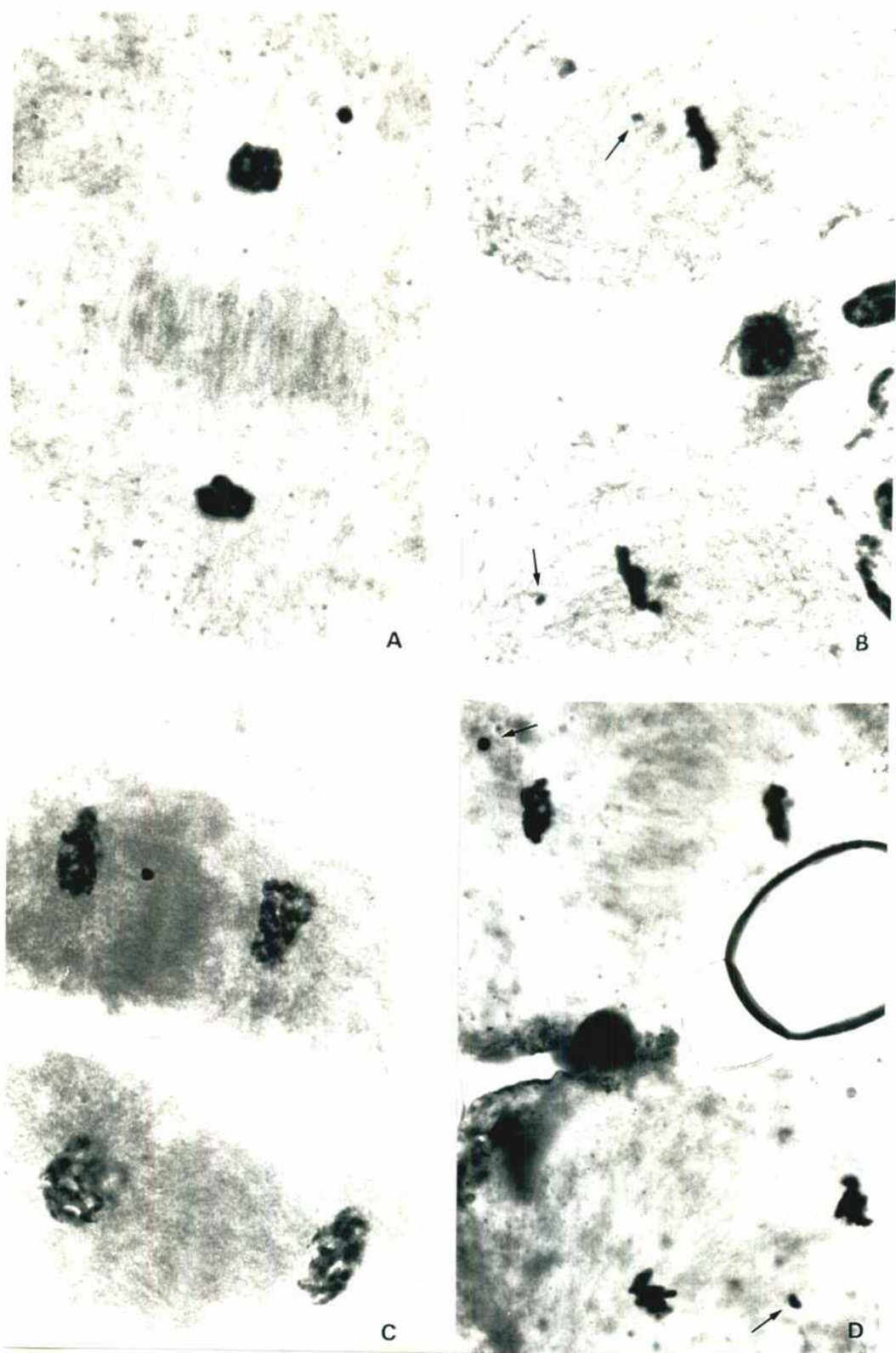


Figura 21. A) Telofase I, micronúcleo (*Am. chico*). B) Díada en metafase II, dos cromátidas B fuera de la placa (*Am. chico*). C) Díada en telofase II con un micronúcleo (*Pising.*). D) Díada en telofase II con sendos micronúcleos (*Am. chico*). La barra mide 10 μ m.

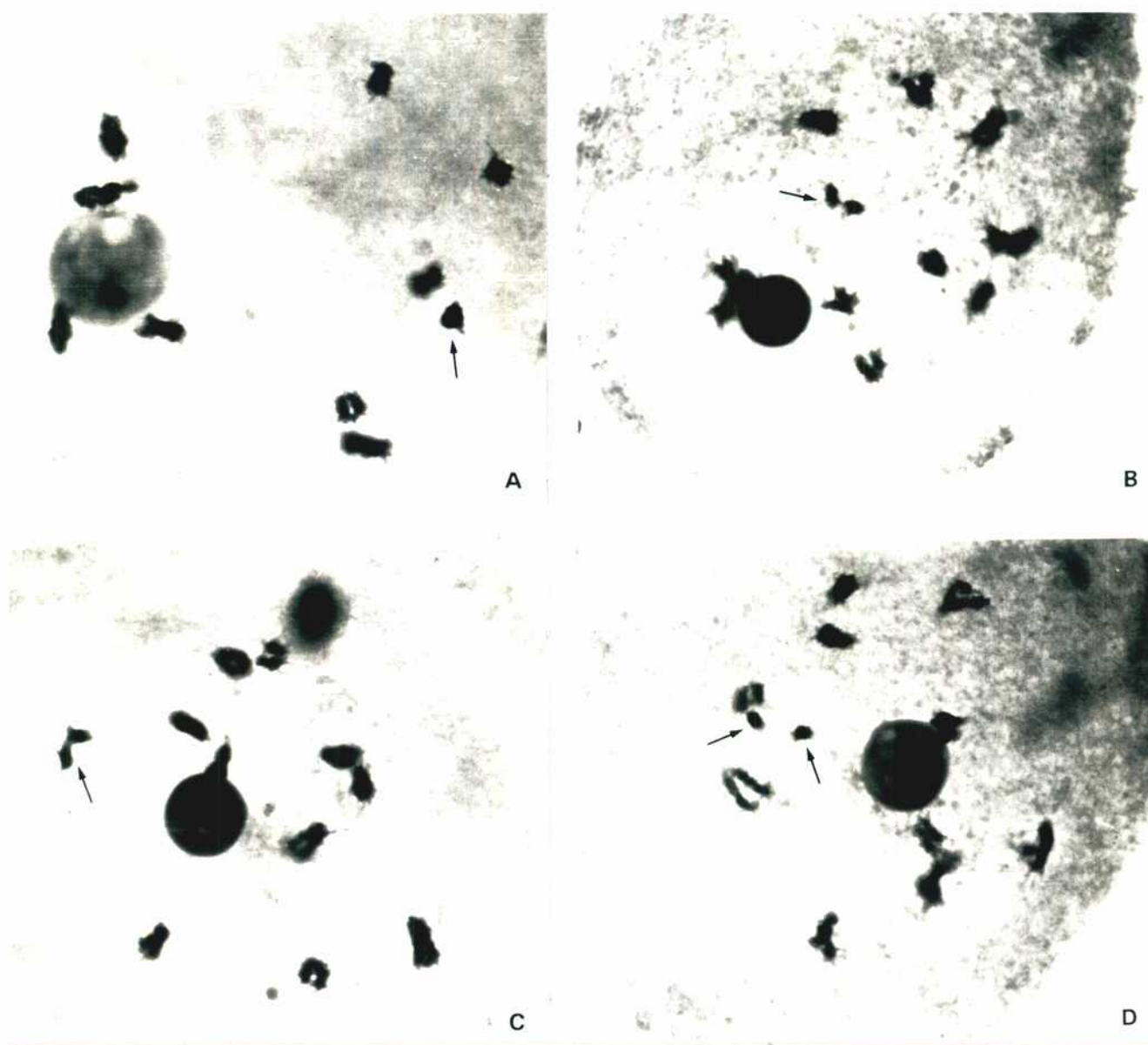


Figura 22. A) Diacinesis, bivalente B cerrado (*Pising.*). B) y C) Diacinesis, bivalente B abierto (*Pising.*). D) Diacinesis, 2 univalentes B (*Pising.*). La barra mide 10μm.

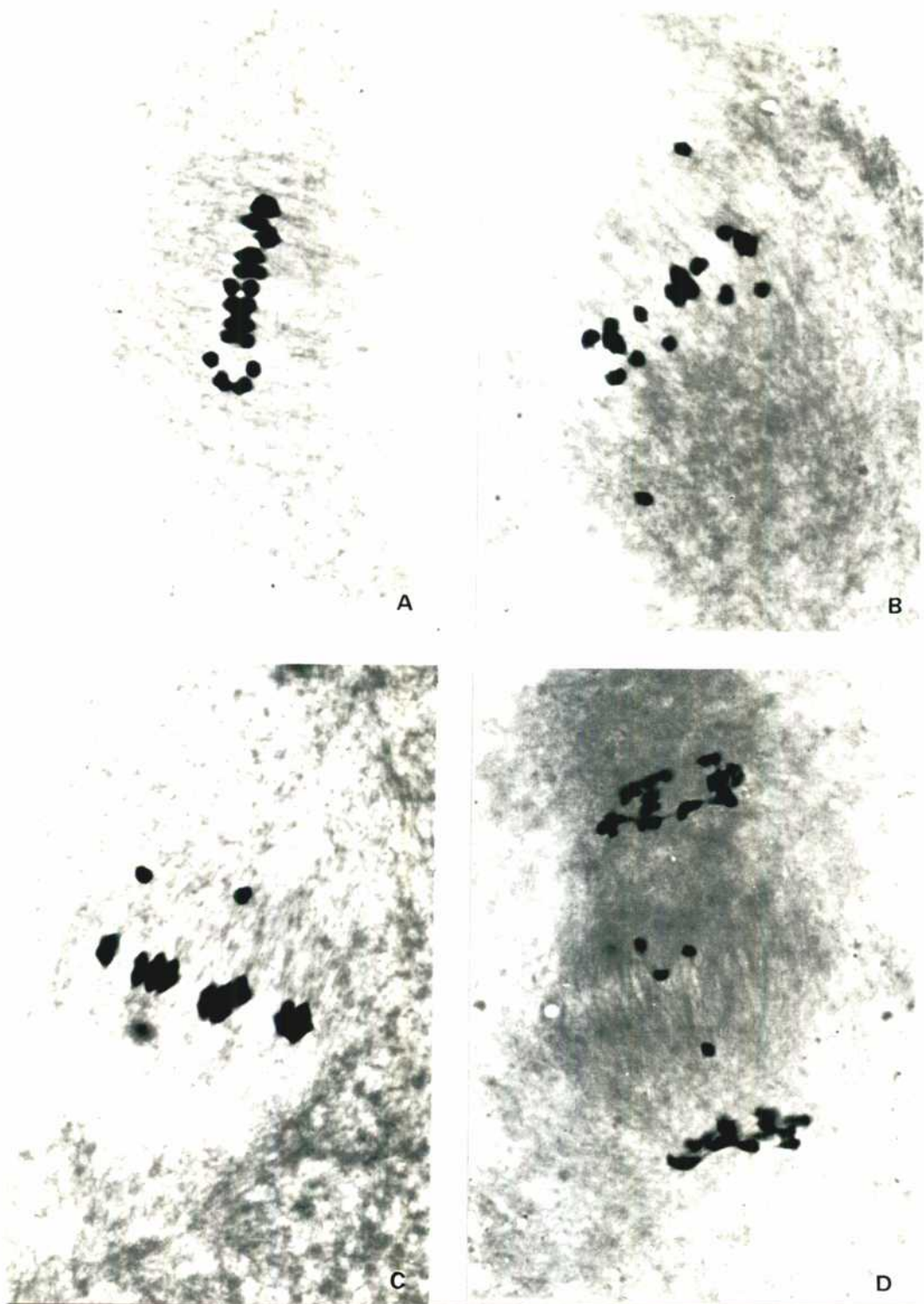


Figura 23. A) Metafase I, bivalente B segregando precozmente (*Pising.*). B) Metafase I, dos univalentes B migrando a cada polo (*Pising.*). C) Metafase I, dos univalentes B migrando al mismo polo (*Pising.*). D) Anafase I, dos univalentes B divididos ecuacionalmente (*Am. chico*). La barra mide 10 μm.

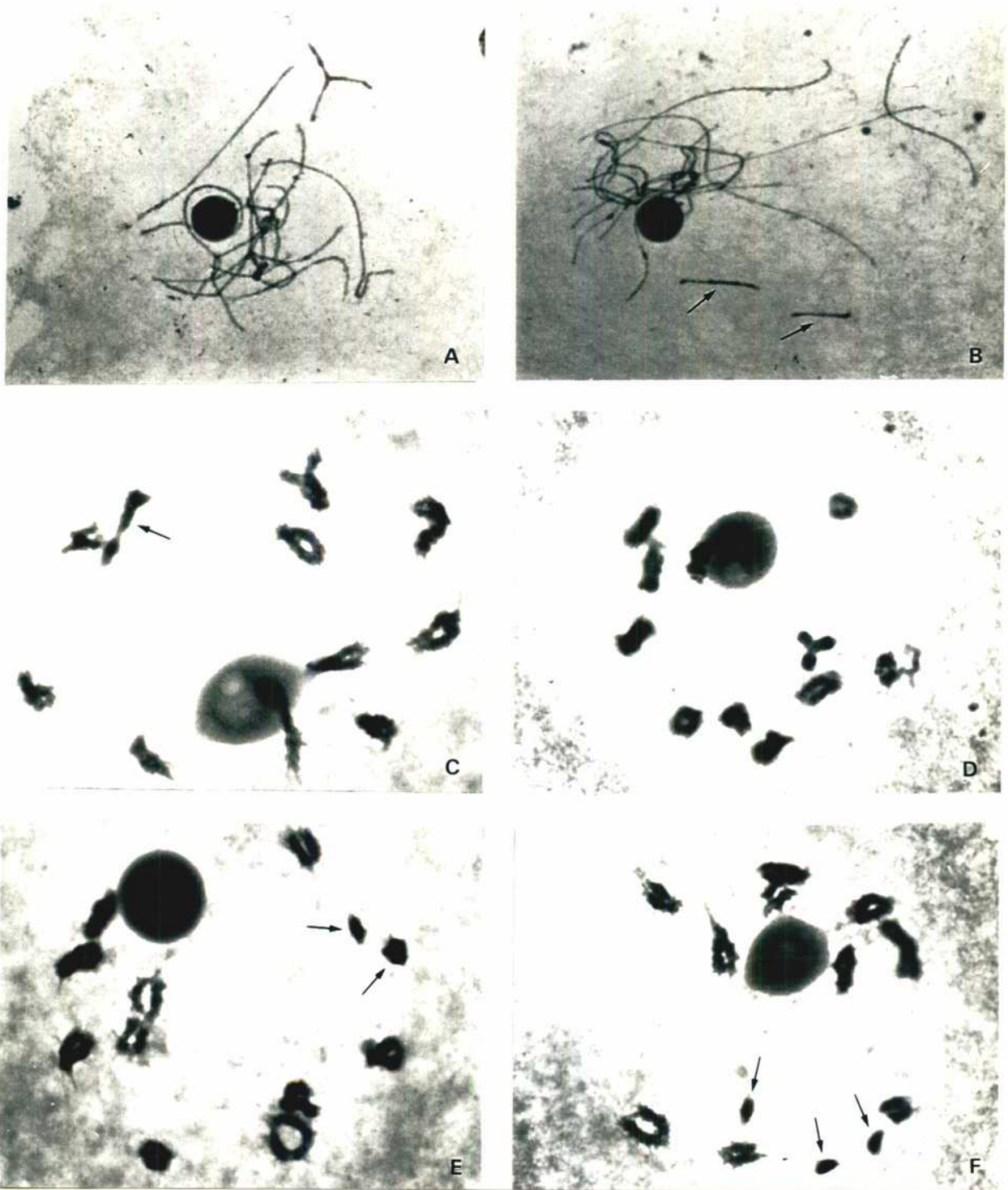


Figura 24. A) Paquitene, trivalente B (*Am. chico*). B) Paquitene, bivalente B y univalente B (*Am. chico*). C) Diplotene-diacinesis, trivalente B lineal (*Am. chico*). D) Diacinesis, trivalente B "en Y" (*Am. chico*). E) Diacinesis, bivalente B y univalente B (*Am. chico*). F) Diplotene-diacinesis, tres univalentes B (*Am. chico*). La barra mide 10 μ m.

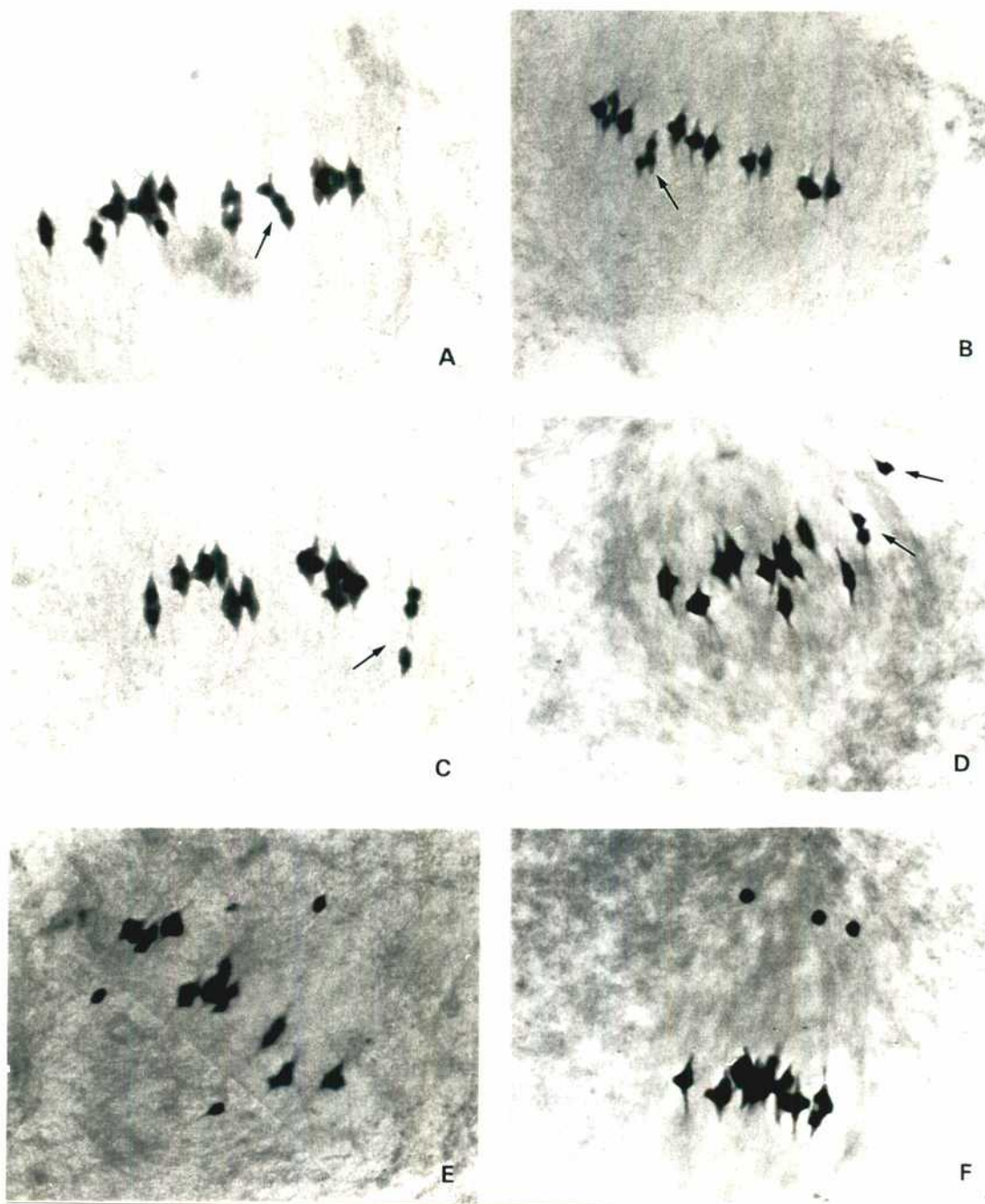


Figura 25. A) a F) Metafase I (*Am. chico*). A) y B) Trivalente B en placa. C) Trivalente B segregando precozmente. D) Bivalente B en placa y univalente B migrando a un polo. E) Dos univalentes B migrando a un polo y otro al opuesto. F) Tres univalentes migrando al mismo polo. La barra mide 10 μ m.

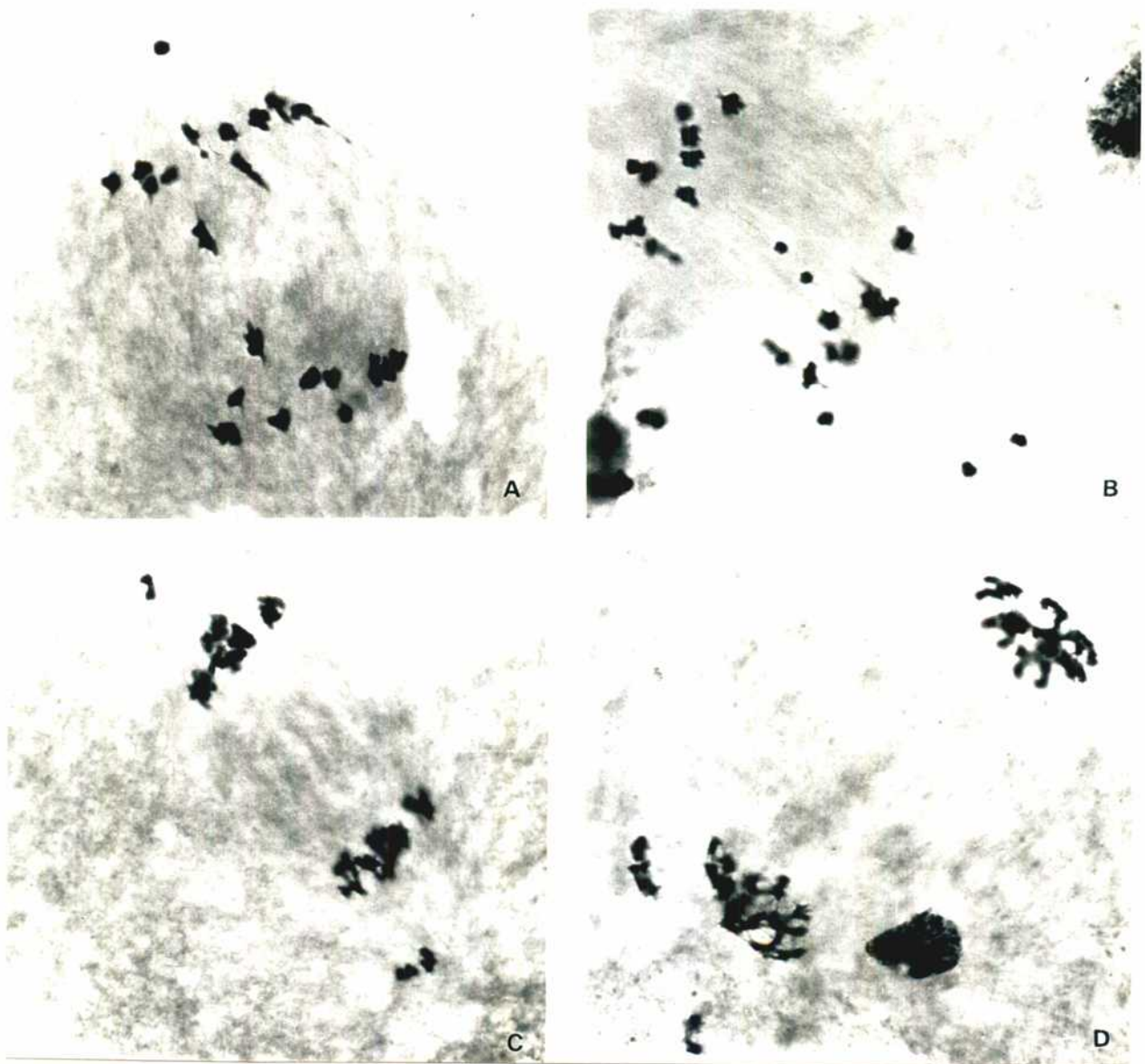


Figura 26. A) a C) Anafase I (*Am. chico*). A) Dos B segregando normalmente, mientras que un univalente B se encuentra en un polo. B) Dos univalentes B en un polo, mientras que otro se divide ecuacionalmente. C) Dos univalentes en un polo, otro en el opuesto. D) Telofase I temprana, tres univalentes B en un polo, no integrados (*Am. chico*). La barra mide 10 μ m.

DISCUSIÓN

TASA DE TRANSMISIÓN DE LOS CROMOSOMAS B

Estabilidad somática

La tasa de transmisión de los cromosomas B en la descendencia de los cruzamientos 0Bx1B (G_0) no fue afectada por la posible pérdida en las mitosis de la línea somática o de la germinal. El recuento del número de cromosomas B en las células madres de las microsporas coincidió en todos los casos con el número determinado previamente en el meristema de la raíz primaria del mismo individuo, corroborándose en esta población la estabilidad mitótica de los B, tal como fue hallado en maíz por Alfenito & Birchler (1990).

Tasa de transmisión en G_0

Los recuentos cromosómicos de la descendencia G_0 de los cruzamientos 0Bx1B revelaron la ocurrencia de no-disyunción de los B en la segunda mitosis del polen, en más del 99% de los casos, es decir, la descendencia presentó en su inmensa mayoría 0B y 2B (Tabla 1, pág. 67). Por lo tanto, la tasa de transmisión masculina casi no se encuentra afectada por la escasa ocurrencia de disyunción normal del B en la segunda mitosis del grano de polen.

La tasa de transmisión esperada en la descendencia G_0 de los cruzamientos 0Bx1B es 0,5, en el caso de existir solamente supresión de la pérdida meiótica y no-disyunción del B durante la segunda mitosis del grano de

polen. Sin embargo en la tabla 1 (pág. 67) se presentaron casos en los que las tasas son mayores a las esperadas (0,98, por ejemplo). Esto implicaría una alta probabilidad de fecundación por el núcleo espermático portador de los dos B, resultantes de la no-disyunción, debida al fenómeno de fecundación preferencial. Los casos en los que las tasas de transmisión fueron menores que las esperadas (0,17, por ejemplo), indicarían una tendencia a la pérdida del cromosoma B, debida a una baja probabilidad de fecundación por el núcleo espermático portador de los dos B (resultantes de la no-disyunción).

Tasa de transmisión en G_1 y G_2

Las progenies G_1 obtenidas a partir de los cruzamientos 0Bx2B en los grupos de alta y baja transmisión seleccionados en la generación parental G_0 , presentaron tasas medias de transmisión masculina significativamente diferentes entre sí: $T_{ta}=0,65$ y $T_{tb}=0,41$, respectivamente (Tablas 2 y 3, págs. 69 y 70). Esto demostraría un progreso selectivo en G_0 para el grupo seleccionado para alta y baja tasa de transmisión de los cromosomas B, indicando la existencia de un componente genético en la variación hallada en G_0 . Por lo tanto, la transmisión masculina de los cromosomas B a la descendencia estaría afectada por el genotipo de los progenitores (Figura 9, pág. 73).

Los resultados obtenidos durante la segunda generación de selección (G_2) indicaron que se mantuvieron las diferencias significativas en las tasas de transmisión entre los grupos de alta y baja tasa de transmisión. Los promedios de

la tasa de transmisión obtenidos fueron $Tt_a=0,68$ para la descendencia de los cruzamientos realizados dentro del grupo seleccionado para alta Tt y $Tt_b=0,48$ para la descendencia de los realizados dentro del grupo de baja Tt (Figura 9, pág. 73; Tablas 4 y 5, págs. 71 y 72).

Meiosis

Una vez demostrada la existencia de control genético de la tasa de transmisión de los B, se planteó la siguiente pregunta: ¿ Actúan estos genes modificando el comportamiento de los B en la meiosis, provocando una mayor pérdida meiótica en los individuos de baja tasa de transmisión?.

Los resultados del comportamiento meiótico de individuos con 1B de la población de partida (VAV 6313) indican que su pérdida es muy escasa. Los cromosomas B rezagados, o que sufren división ecuacional durante anafase I, o que no se integran en telofase I, terminarían perdiéndose (Figura 20 y 21, págs. 112 y 113). Las frecuencias de estos eventos nunca superó el 3%; la frecuencia de micronúcleos en TI - díadas y TII - tétrada varió de 0 a 8%. Estos valores no se encontraron asociados con los de la tasa de transmisión de los individuos estudiados. Por lo tanto, la amplia variación de la tasa de transmisión dentro del grupo de individuos de esta población no puede justificarse aduciendo la pérdida meiótica de los univalentes B. Estos resultados están de acuerdo con los hallados por Powers y Dhal (1937) y Randolph (1941). La presencia de genes en los B de esta población suprimiría la pérdida de estos cromosomas en la meiosis cuando se

encuentran como univalentes, tal como lo determinarían Carlson y Roseman (1992) en su material.

El comportamiento meiótico de 2B en individuos seleccionados para alta y baja tasa de transmisión mostró regularidad. En general, los 2B forman un bivalente en la profase I, el que se ubica en la placa de la metafase I (Figura 22, pág. 114). Pudo observarse una mayor tendencia a la presencia de 2 univalentes B en los individuos seleccionados para baja tasa de transmisión. Sin embargo, esta mayor frecuencia media de univalentes en el grupo de baja Tt (10,7%) respecto de la del grupo de alta Tt (3,3%), no resultó estadísticamente significativa. Esta tendencia no alcanza para explicar las diferencias de tasas de transmisión encontradas en G₁ y G₂, porque: 1) los univalentes B no se pierden durante la meiosis, tal como fue determinado analizando el comportamiento meiótico de individuos portadores de 1B. Si se pretendiera explicar la variación hallada en las tasas de transmisión sobre la base de la diferencia de frecuencia de univalentes, deberían perderse prácticamente el 100% de los univalentes; 2) la frecuencia de micronúcleos registrada en telofase I-díada y telofase II-tétrada fue escasa, y no se encontró asociada a una mayor frecuencia de univalentes B, ni a una menor tasa de transmisión.

Por otro lado, la frecuencia de individuos portadores de 4B en el grupo de baja Tt fue 0% en G₁ (313 individuos), 0,4% en G₂ (259 individuos) y 0,7% (142 individuos) en G₃; mientras la frecuencia de individuos portadores de 4B en el grupo de alta Tt fue 1,7% en G₁ (412 individuos), 1,2% en G₂ (246 individuos) y 0%

en G₃ (126 individuos) (Tablas 2, 3, 4, 5, 6 y 7, págs. 69, 70, 71, 72, 74 y 75). La presencia de individuos con 4B en la progenie de un cruzamiento 0Bx2B es posible sólo cuando hay migración conjunta de dos univalentes B hacia el mismo polo en anafase I. La escasa frecuencia de individuos con 4B en estas progenies indicó un elevado grado de disyunción normal de los B en anafase I.

Estos resultados descartan la posibilidad que los genes que afectan la tasa de transmisión estén actuando sobre el comportamiento meiótico de los B. Por otro lado, recientemente pudo determinarse en centeno que los genes que controlan la tasa de transmisión de los B en las poblaciones actúan sobre su comportamiento meiótico. La diferencia en la tasa de transmisión entre los individuos con 2B de las líneas de alta y baja se debe a una capacidad diferencial en formar uni- o bivalentes en metafase I. Cuando los B se presentan como dos univalentes, sólo en el 20% de los granos de polen se observan cromosomas B, siendo eliminados como micronúcleos en el 80% restante (Jiménez *et al.*, en prensa).

Tasa de transmisión en G₃

Las progenies G₃ obtenidas a partir de los cruzamientos 0B(**alta**)x2B(**alta**), presentaron tasas media de transmisión masculina significativamente mayores a las obtenidas a partir de cruzamientos 0B(**baja**)x2B(**baja**) ($p=0.01993$): $T_{aa}=0,71$ y $T_{bb}=0,48$, respectivamente (Tabla 10, pág. 77). De esta manera, los grupos de alta

y baja tasa de transmisión permanecieron significativamente diferenciados respecto de su tasa de transmisión hasta la tercera generación de selección.

Si se descarta que el control genético de la tasa de transmisión masculina se extienda al comportamiento meiótico de los B, existen otras dos hipótesis alternativas: 1) la acción de estos genes sobre la fecundación preferencial afectan la frecuencia con la que el núcleo portador de los dos B (resultantes de la no-disyunción en la segunda mitosis del polen) fecunda la oósfera; 2) varia la capacidad del receptor femenino para "aceptar" el núcleo espermático portador de los 2B.

La tasa media de transmisión (Tt) obtenida de los cruzamientos 0B(**alta**) x 2B(**alta**) y 0B(**alta**) x 2B(**baja**) resultó significativamente mayor que la Tt de los cruzamientos 0B(**baja**) x 2B(**baja**) y 0B(**baja**) x 2B(**alta**) ($F = 25.595$, $p < 0.0001$). (Tabla 10, pág. 77). Estos hechos indican que los genes que controlan la transmisión masculina de los B no actúan confiriendo al núcleo espermático portador de los 2B mayor capacidad para fecundar a la oósfera. Los resultados demuestran que dichos genes regulan la frecuencia con la que el receptor femenino sin Bs es fecundado por el núcleo espermático con Bs (Figura 10, pág. 78; Tabla 10, pág. 77).

Según Carlson (1986) los mecanismos de fecundación preferencial se entienden de modo parcial. Éstos no se deben a una migración de los B hacia un

polo específico durante la no-disyunción, ni a una orientación determinada de los núcleos espermáticos con y sin Bs dentro del tubo polínico durante su germinación (Shi et al., 1996). Los mecanismos actúan confiriendo al núcleo espermático con cromosomas B cierta ventaja competitiva durante la fecundación. La naturaleza de esta ventaja es desconocida. No obstante, Carlson (1969) encontró una línea de maíz que al ser utilizada como progenitor femenino bloquea la fecundación preferencial, y postuló que este efecto podría deberse a la presencia de un alelo recesivo simple.

Los resultados obtenidos de los cuatro tipos de cruzamientos indican que, dentro de la población estudiada (VAV 6313), la planta receptora del polen es la que establece la frecuencia con la que el núcleo espermático portador de los 2B fecunda a la oósfera. Además, por la manera en que se realizaron los cruzamientos (0Bx2B) el progenitor femenino no posee Bs y, puede concluirse que los genes que controlan la tasa de transmisión masculina se encuentran en los A. Si estos genes se hubieran encontrados en los B, la tasa de transmisión hubiera dependido del grupo (alta o baja Tt) al que perteneciera el progenitor masculino con 2B, y hubiera resultado independiente del progenitor femenino. Los resultados obtenidos a partir de los cruzamientos 0B(alta) x 2B(alta) (Tt) y 0B(baja) x 2B(alta) (Tt), son similares a los descritos por Carlson en 1969. Sin embargo, esos dos tipos de cruzamientos no son suficientes por si solos para comprender la naturaleza de la fecundación preferencial.

Por otro lado, la tasa de transmisión en centeno se encuentra modificada por genes que regulan la capacidad de los B para formar univalentes. En los individuos de la línea de alta transmisión la frecuencia de formación de bivalentes es superior a la de los individuos de baja transmisión. Este hecho determina la pérdida o conservación de los B durante la meiosis. Estos genes se encuentran localizados en los cromosomas B; por lo tanto, los polimorfismos para cromosomas B en centeno se encontrarían principalmente controlados por estos mismos cromosomas (Jiménez *et al.*, 1995, y en prensa).

En *Pseudococcus affinis*, los cromosomas B reducen la aptitud de los individuos portadores, logrando mantenerse en la población por el impulso meiótico. Sin embargo, en las poblaciones naturales existen genes (*TRGs*) localizados en el complemento cromosómico estándar (A) que reducen la transmisión (Nur and Brett, 1988). En *Myrmeleotettix* fue también determinada la presencia de un gen *modificador* que reduce en las hembras el impulso meiótico de los B como se comprueba en la descendencia (Shaw and Hewitt, 1985 Shaw *et al.*, 1985). En cambio, los resultados obtenidos en el presente estudio indican que si bien la tasa de transmisión de los cromosomas B también se encuentra afectada por el genotipo de los A, éstos no reducen la tasa de transmisión, sino que la aumentan.

Existen dos posibles razones, según Carlson (1978, 1986), que explicarían la fecundación preferencial: 1) un efecto propio de la región proximal de los B, 2)

una ventaja no específica conferida a la célula espermática por la presencia de cromatina extra. De acuerdo con estos resultados, puede agregarse como tercera hipótesis: Una mayor tendencia a "aceptar" los 2B por parte del progenitor femenino.

La tasa de transmisión dentro del grupo de alta transmisión en G_1 y G_2 , y en los cruzamientos alta x alta y alta x baja en G_3 , fue significativamente mayor a la mendeliana (0,5). Por otro lado, la tasa de transmisión en el grupo de baja Tt en G_2 , y en los cruzamientos baja Tt x baja Tt y baja Tt x alta Tt en G_3 , no resultó significativamente diferente a la mendeliana (0,5), excepto para el grupo de baja Tt en G_1 , donde fue inferior. De acuerdo con esto, algunos genotipos (genes pro-B) aumentan la frecuencia de fecundación por el núcleo portador de los B, mientras que esto no ocurre en otros (genes anti-B), produciéndose una fecundación al azar con una tasa de transmisión de 0,5. Sin embargo, hasta el momento se desconoce la frecuencia con la que una oósfera con 1B o más Bs "acepta" al núcleo espermático portador de cromosomas B.

COMPORTAMIENTO MEIÓTICO DE LOS CROMOSOMAS B

Frecuencia de quiasmas

Relación con la frecuencia de quiasmas de los cromosomas A

La frecuencia de quiasmas de los B fue evaluada mediante la frecuencia de formación de un trivalente en individuos con 3B. Los cromosomas B de la raza *Amarillo chico* presentaron una relación positiva entre la frecuencia de quiasmas de los B y la frecuencia de quiasmas de los cromosomas A (medida como la frecuencia media de bivalentes A abiertos). Es decir, la frecuencia de quiasmas de los B disminuye a medida que aumenta la frecuencia de bivalentes A abiertos. Por otro lado, la frecuencia de quiasmas de los cromosomas B de la raza *Pisingallo* no muestra una relación evidente con la frecuencia de quiasmas de los cromosomas A (Figura 15, pág. 105).

Frecuencia de apareamiento, dosis y origen racial

La frecuencia de univalentes B en individuos con 2B y 3B se evaluó mediante la frecuencia de apareamiento considerada como: la frecuencia de bivalentes B en individuos con 2B, y la frecuencia de trivalentes en individuos con 3B (es decir, $\text{frec. apareamiento} = 1 - \text{frec. de al menos 1 univalente B}$). La frecuencia de apareamiento de los 3B provenientes de *Pisingallo* resultó significativamente mayor que la observada en *Amarillo chico* (Figura 16, pág. 107; Tabla 17, pág. 106). Por otro lado, pudo determinarse que los B de la raza

Amarillo chico poseen una frecuencia de apareamiento menor para la dosis 3B que para la dosis 2B. (Figuras 16, 22 y 24, págs 107, 114 y 116; Tabla 17, pág. 106).

Pérdida meiótica

Causas

La frecuencia de micronúcleos en los individuos controles intrarraciales e híbridos sin cromosomas B (0B) es muy pequeña cuando se compara con los individuos que poseen cromosomas B. Por lo tanto, la presencia de micronúcleos solo puede ser atribuida a los cromosomas B (Figura 17, págs. 108). De acuerdo con esto, la frecuencia de micronúcleos en telofase I - díada es una medida representativa para evaluar la pérdida meiótica de los cromosomas B. Los cromosomas Bs se pierden en la meiosis sólo cuando se encuentran como univalentes. Esta pérdida se debe a tres razones principales: 1) el univalente B se divide ecuacionalmente en anafase I; 2) el univalente B permanece rezagado en anafase I; 3) el univalente B migra a un polo, pero no se integra a ninguno de los núcleos formados en telofase I.

La presencia de un micronúcleo en telofase II - tétrada correspondería al univalente B que no se integró en telofase I, permaneciendo como micronúcleo hasta el final de la meiosis II (Figura 21 C, pág. 113). Por otro lado, cuando el univalente se divide ecuacionalmente, las cromátidas resultantes permanecen fuera de la placa en metafase II, y terminan por perderse en telofase II - tétrada,

quedando excluidas de los núcleos resultantes y formando dos micronúcleos (Figura 21 B y D, pág. 113).

Relación con la dosis

Los resultados indican que los cromosomas B de los individuos de la raza *Amarillo chico* se pierden con mayor frecuencia cuando se encuentran en simple dosis (Figuras 20 y 21, págs 112 y 113). En cambio cuando los B se encuentran en dosis superiores a 1B, pueden aparearse y segregar correctamente durante anafase I, integrándose de esta manera a los núcleos resultantes en telofase I.

En los individuos con dos Bs, la frecuencia de micronúcleos en telofase I-diada fue escasa en los todos los individuos híbridos y controles intrarraciales de *Amarillo chico* y *Pisingallo*. Los individuos con 3B de la raza *Amarillo chico* presentan una mayor tendencia a la pérdida meiótica, aunque las diferencias no resultaron significativas (Figura 17, págs. 108). Este aumento se debe a que la frecuencia de apareamiento de los B es significativamente menor en individuos con 3B que en individuos con 2B. Por lo tanto, la pérdida meiótica es mayor a medida que aumenta el número de univalentes B (Figura 16, pág. 107).

Relación con la raza de los individuos portadores

La pérdida meiótica de los cromosomas B fue significativamente mayor en los individuos de la raza *Amarillo chico* que en los de la raza *Pisingallo*. En general,

la frecuencia de micronúcleos en los híbridos fue intermedia respecto de las dos razas (Figura 17, pág. 108; Tabla 18, pág. 108).

La raza *Pisingallo* posee escasa pérdida meiótica, tal como pudo observarse en los controles intrarraciales de tipo *B* portadores de 1B, y en los resultados del comportamiento meiótico en individuos con 1B con diferente tasa de transmisión (Tabla 11, pág. 79). La pérdida meiótica en individuos híbridos de tipo *B* (1B) (Tabla 13, pág. 87) fue tan elevada como la de los individuos controles *A* (raza *Amarillo chico*), de 0,05 a 0,54 y de 0,11 a 0,39, respectivamente. Estos híbridos portan un cromosoma *B* proveniente de la raza *Pisingallo* transmitido por vía materna, de tal manera que el citoplasma también pertenece a la misma raza. Por lo tanto, resulta poco probable que la elevada frecuencia de micronúcleos en telofase I - díada en los individuos de la raza *Amarillo chico* se encuentre asociada a los cromosomas *B* o a algún efecto del citoplasma de *Amarillo chico*.

La mayor pérdida meiótica del univalente *B* podría deberse a la presencia de genes en los cromosomas *A* de los individuos de la raza *Amarillo chico*, que no se encontrarían en los individuos de raza *Pisingallo*. Estos genes podrían haberse transmitido al híbrido *B*, provocando una mayor pérdida meiótica del univalente *B* proveniente de la raza *Pisingallo*. La presencia de tales genes en los individuos junto con una menor frecuencia de apareamiento de los cromosomas en dosis 3B, explicarían la mayor pérdida meiótica registrada en la raza *Amarillo chico*.

CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas a partir de los estudios sobre el comportamiento meiótico de los cromosomas B en las razas *Amarillo chico* y *Pisingallo* se pueden resumir en los siguientes puntos:

- ✓ El aumento de la frecuencia de quiasmas de los cromosomas B en individuos con 3B se relaciona positivamente con la de los cromosomas A en *Amarillo chico*, siendo la frecuencia de quiasmas de los B menor en *Amarillo chico* que en *Pisingallo*.
- ✓ La pérdida meiótica es mayor en los individuos de *Amarillo chico* que en los de *Pisingallo*.
- ✓ En los individuos de *Amarillo chico* la pérdida meiótica de los cromosomas B es mayor para individuos con 1B y 3B que en los individuos con 2B, debido a la elevada frecuencia de apareamiento de los 2B.

En la población estudiada de la raza *Amarillo chico* es posible proponer la existencia de genes en los cromosomas A que podrían determinar una mayor frecuencia de pérdida meiótica de los univalentes B (genes anti-B), tal como lo sugieren los resultados meióticos obtenidos en los individuos con 1B y en los híbridos interraciales obtenidos entre esta raza y *Pisingallo*. Estos genes en la población estudiada podrían jugar un papel importante en la regulación de la frecuencias de individuos con Bs.

Las conclusiones obtenidas a partir de los estudios sobre la tasa de transmisión masculina de los cromosomas B en la población VAV 6313 de la raza *Pisingallo* se pueden resumir en los siguientes puntos:

- ✓ Existe una amplia variación de la Tt masculina de los B dentro de la población estudiada. En todos los cruzamientos 0B x 1B ó 2B realizados los B sufren no-disyunción en la segunda mitosis del polen, casi sin excepción.
- ✓ Dicha variación se debe a la existencia de un polimorfismo para genes que controlan la tasa de transmisión.
- ✓ Los genes que controlan la tasa de transmisión de los B no actúan sobre el comportamiento meiótico de los B.
- ✓ Estos genes se encuentran en los cromosomas del complemento regular (A).
- ✓ Estos genes actúan sobre la frecuencia con la que el receptor femenino con 0B "acepta" al núcleo espermático portador de dos B.

A partir de estos resultados, es interesante destacar el hecho de que las frecuencias en los polimorfismos numéricos para cromosomas B no serían

mantenidas por los mismos B, sino que serían regulados por los genotipos A de las poblaciones.

Rosato et al. (1996) llevaron a cabo el análisis de la transmisión femenina de los cromosomas B en la generación G_0 obtenida mediante cruzamientos $1B \times 0B$, y en las progenies G_1 y G_2 , obtenidas por selección de las plantas de menor y mayor tasa de transmisión. Los resultados indicaron también la existencia de un control genético para la tasa de transmisión femenina de los B. Por lo tanto, queda demostrada la existencia de genes que afectan la tasa de transmisión de los cromosomas B, tanto por la vía materna como por la vía paterna. Los mecanismos de impulso tales como la supresión de la pérdida meiótica, y la no-disyunción en la segunda mitosis del polen serían suficientes para explicar el mantenimiento de los polimorfismos de los B, pero no para explicar sus distintas frecuencias y distribuciones en las poblaciones. La frecuencia de los cromosomas B en las poblaciones podría estar relacionada con la frecuencia de estos genes en las poblaciones de las razas nativas de maíz.

Al considerar la transmisión de los B por las vías femenina y masculina al mismo tiempo dentro de la población se encontró que: existen genotipos por el lado femenino que presentan tasa de transmisión inferior a la mendeliana, y que tienden a perder los cromosomas B; mientras que por el lado masculino existen genotipos que determinan una tasa de transmisión superior a la mendeliana y que tienden a incrementar el número de Bs. De esta manera, en la población se

combinaría la acción de dos fuerzas contrarias: genes anti-B (transmisión femenina) y genes pro-B (transmisión masculina), para el mantenimiento de un polimorfismo numérico estable de los cromosomas B.



BIBLIOGRAFÍA

- Alfenito, M.R. and Birchler, J.A. 1990. Studies on B chromosome stability during development. *Maydica* 35: 359-366.
- Avdulov, N. 1933. On the additional chromosomes in maize. *Bulletin Applied Botany Ser.* 2(2): 120-130.
- Beckett, J.B. 1982. An additional mechanism by which B chromosomes are maintained in maize. *Journal of Heredity* 73: 29-34.
- Blackwood, M. 1956. The inheritance of B chromosomes in *Zea mays*. *Heredity* 10: 353-366.
- Bougourd, S.M. and Plowman, A.B. 1996. The inheritance of B chromosomes in *Allium schoenoprasum* L. *Chromosome Research* 4: 151-158.
- Carlson, W.R. 1969. Factors affecting preferential fertilization in maize. *Genetics* 62: 543-554.
- , 1970. A test for involvement of the polar nuclei in preferential fertilization. *Maize Genetics Cooperation News Letter (USA)* 44: 91-92.
- , 1978. The B chromosome of corn. *Annual Review of Genetics* 12: 5-23.
- , 1986. The B chromosome of maize. *Critical Reviews in Plant Sciences* 3: 201-226.
- and Tau-San Chou. 1981. B chromosome nondisjunction in corn: Control by factors near the centromere. *Genetics* 97: 379-389.
- and Roseman, R. 1992. A new property of the maize B chromosome. *Genetics* 131: 211-223.

- ; Roseman, R., and Zheng. Y. 1993. Localizing a region on the B chromosome that influences crossing over. *Maydica* 38: 107-113.
- Cebriá, A.; Navarro, M.L. and Puertas, M.J. 1994. Genetic control of B chromosome transmission in *Aegilops speltoides* (Poaceae). *American Journal of Botany* 81(11): 1502-1507.
- Christiansen, F.B.; Frydenberg O.; Hjorth, J.P and Simonsen V. 1976. Genetics of zoarces populations. IX Geographic variation at three phosphoglucomutase loci. *Hereditas* 83: 245-256.
- Evans, G.M.; Rees, H.; Snell, C.L. and Sun, S. 1972. The relationship between nuclear DNA amount and the duration of the mitotic cycle. *Chromosome Today* 3: 24-31.
- Grun, P. 1959. Variability of accessory chromosomes in native populations of *Allium cernuum*. *American Journal of Botany* 46: 218-224.
- Hewitt, G.M. 1976. Meiotic drive for B chromosomes in the primary oocytes of *Myrmeleotettix maculatus* (Orthoptera: Acrididae). *Chromosoma* 56: 381-391.
- Jiménez, M.M.; Romera, F.; Gonzalez-Sanchez, M. and Puertas, M.J. 1995. Genes controlling rye B chromosomes transmission rate are located on the Bs. *Chromosome Research*, vol.3 Supl.1, Sept. 1995, P 208, p:101.
- Jiménez, M.M., Romera, F., Gonzalez-Sanchez, M. and Puertas, M.J. Genetic control of the transmission rate of rye B chromosomes. III. Male meiosis and gametogenesis. *Heredity*, in press.
- Jones, R.N., 1995. Tansley Review No. 85. B chromosome in plants. *New Phytology* 131:411-434.
- and Rees. H. 1982. B Chromosomes. Academic Press. N.Y.

- and Puertas, M.J. 1993. The B Chromosomes of rye (*Secale cereale* L.). In: Dhir K.K., Sareen T.S. (eds) *Frontiers in Plant Science Research*, pp. 81-112. Bhagwati Enterprises, Delhi (India).
- Kayano, H. 1971. Accumulation of B chromosomes in the germ line of *Locusta migratoria*. *Heredity* 27: 119-123.
- Kirk, D. and Jones, R.N. 1970. Nuclear genetic activity in B-chromosomes rye, in terms of the quantitative interrelationships between nuclear protein, nuclear RNA and histone. *Chromosoma* 31: 241-254.
- Longley, A.E. 1938. Chromosomes of maize from North American Indians. *Journal of Agricultural Research* 56(3): 177-195.
- Matthews, R.B. and Jones, R.N. 1982. Dynamics of the B chromosome polymorphism in rye I. Simulated populations. *Heredity* 48: 345-369.
- Mendelson, D. and Zohary, D. 1972. Behaviour and transmission of supernumerary chromosomes in *Aegilops speltoides*. *Heredity* 29: 329-339.
- Müntzing, A. 1963. Effects of accesory chromosomes in diploid and tetraploid rye. *Hereditas*, 49: 371-426.
- Núñez, O. 1968. An acetic haematoxylin squash method for small chromosomes. *Caryologia* 21(2): 115-119.
- Nur, U. 1963. A mitotically unstable supernumerary chromosome with an accumulation mechanism in a grasshopper. *Chromosoma* 14: 407-422.
- and Brett, B.L.H. 1988. Genotypes affecting the condensation and transmission of heterochromatic B chromosomes in the mealybug *Pseudococcus affinis*. *Chromosoma* 96: 205-212.

- Oliver, J.L.; Posse, F.; Martinez-Zapater, M.J.; Enríquez, A.M. and Rejón, M.R. 1982. B Chromosomes and E-1 Isozyme Activity in Mosaic Bulbs of *Scilla autumnalis* (Liliaceae). *Chromosoma* 85: 399-403.
- Parker J.S.; Taylor, S. and Ainsworth, C.C. 1982. The B chromosome system of *Hypochoeris maculata*. III. Variation in B chromosome transmission rates. *Chromosoma* 85: 299-310.
- ; Jones, G.H.; Edgar, L. and Whitehouse, C. 1989. The population cytogenetics of *Crepis capilaris* II. The stability and inheritance of B chromosomes. *Heredity* 63: 19-27.
- Powers, L. and Dahl, A.O. 1937. Failure of diakinesis and metaphase pairing and the behavior during meiosis of univalent chromosomes in *Zea mays*. *Journal of Agricultural Research*. 54: 655-668.
- Puertas, M.J. and Carmona, R. 1976. Greater ability of pollen tube growth in rye plants with 2B chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics* 47: 41-43.
- Puertas, M.J.; Jiménez, M.M.; Romera, F.; Vega, J.M. and Díez, M. 1990. Maternal imprinting effect on B chromosome transmission in rye. *Heredity* 64: 197-204.
- Randolph, L.F. 1941. Genetic characteristics of the Bs chromosomes in maize. *Genetics* 26: 608-631.
- Rejón, M.R.; Posse, F. and Oliver, J.L. 1980. The B chromosome system of *Scilla autumnalis* (Liliaceae): Effects at the isozyme level. *Chromosoma* 79: 341-348.
- Rejón, M.R.; Rejón, R.C. and Oliver, J.L. 1987. Evolución de los cromosomas B. *Investigación y Ciencia* 133: 92-100.

- Remis, M.I. and Vilardi, J.C. 1986, Meiotic behaviour and dosage effect of B-chromosomes on recombination in *Dichroplus elongatus* (Orthoptera: Acrididae). *Caryologia* 39: 287-301.
- Roman, H. 1947. Mitotic nondisjunction in the case of interchanges involving of the B type chromosome in maize. *Genetics* 32: 391-409.
- , 1948. Directed fertilization in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 34: 36-42.
- Romera, F.; Vega, J.M.; Diez, M. and Puertas, M.J. 1989. B chromosome polymorphism in rye korean population. *Heredity* 62: 117-121.
- ; Jimenez, M.M. and Puertas, M.J. 1991. Genetic control of the rate of transmission of rye B chromosomes. I. Effects in 2Bx0B crosses. *Heredity* 66: 61-65.
- Rosato, M.; Chiavarino, A.M.; Naranjo, C.A.; Puertas, M.J. and Poggio, L. 1996. Genetic control of B chromosome transmission rate in *Zea mays* ssp. *mays* (Poaceae). *American Journal of Botany* 83(9): 1107-1112.
- ; Chiavarino, A.M.; Naranjo, C.A.; Cámara Hernández, J. and Poggio, L. Genome size and numerical polymorphism for the B chromosome in races of maize (*Zea mays* ssp. *mays*, Poaceae). *American Journal of Botany* (accepted).
- Sáez F.A. 1960. El empleo de la hematoxilina acética o propiónica para el estudio de los cromosomas con la técnica del aplastamiento. *Com. Soc. Biol. Montevideo* (mimeografiado).
- Shaw, M.W. and Hewitt, G.M. 1985. The genetic control of meiotic drive acting on the B chromosome of *Myrmeleotettix maculatus* (Orthoptera, Acrididae). *Heredity* 54: 187-194.

-----; Hewitt, G.M and Anderson, D.A.. 1985. Polymorphism in rates of meiotic drive acting on the B-chromosome of *Myrmecotettix maculatus*. Heredity 55: 61-68.

Shi, L.; Zhu, T.; Mogensen, H.L. and Keim, P. 1996. Sperm identification in maize by fluorescence *in situ* hybridization. Plant Cell 8: 815-821.

Ward, E.J. 1973. Nondisjunction: localization of the controlling site in the maize B chromosome. Genetics 73: 387-391.